Valeurs toxicologiques de référence (VTR) pour les substances reprotoxiques

Méthode de construction de VTR fondées sur des effets toxiques pour la reproduction et le développement

- **Avis de l'Afsset**
- **Rapport du groupe d'experts**



Avril 2007

Avis de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire de l'Environnement et du Travail

Relatif à la proposition d'une méthode de construction de valeurs toxicologiques de référence pour les substances toxiques sur la reproduction et le développement

Saisine Afsset n° 2003/AS03

Les Valeurs Toxicologiques de Référence (VTR) sont des indices permettant d'établir une relation qualitative, voire quantitative, entre une exposition à une substance chimique et un effet sanitaire chez l'homme. Elles sont spécifiques d'une substance, d'une durée d'exposition et d'une voie d'exposition. Leur construction diffère en fonction de l'hypothèse formulée ou des données acquises sur les mécanismes d'action toxique de la substance : on parle de VTR « à seuil de dose » pour les substances qui provoquent, au-delà d'une certaine dose, des dommages dont la gravité est proportionnelle à la dose absorbée et de VTR « sans seuil de dose », pour les substances pour lesquelles il existe une probabilité, même infime, qu'une seule molécule pénétrant dans l'organisme provoque des effets néfastes pour cet organisme. Ces dernières substances sont, pour l'essentiel, des substances génotoxiques pouvant avoir des effets cancérogènes, ou dans certains cas reprotoxiques.
Les VTR à seuil s'expriment comme des doses ou concentrations journalières admissibles ou des doses ou concentrations de référence. Compte tenu de leur construction, ces valeurs correspondent à une estimation de la quantité de substance à laquelle un individu peut théoriquement être exposé sans constat d'effet sanitaire néfaste. Les VTR sans seuil s'expriment généralement comme des excès de risque unitaire. Il s'agit de la probabilité supplémentaire, par rapport à un sujet non exposé, qu'un individu contracte une pathologie (souvent un cancer) s'il est exposé pendant sa vie entière à une unité de dose de la substance.
L'élaboration de ces VTR suit une approche très structurée et exigeante qui implique des évaluations collectives. Elles sont une étape clé de la démarche d'évaluation des risques sanitaires et sont également la base d'actions correctives par les gestionnaires de risque, comme la proposition de valeurs guides ou de normes.

L'Afsset a pour mission de contribuer à assurer la sécurité sanitaire dans le domaine de l'environnement, notamment en mobilisant l'expertise scientifique et technique nécessaire à l'évaluation du risque. La qualité de cette expertise nécessite la production continue de connaissances et de méthodologies recouvrant de nombreux champs de compétences scientifiques. Le développement d'outils permettant de mieux évaluer les risques sanitaires des substances chimiques ou biologiques fait d'ailleurs partie des actions du Plan National Santé Environnement (PNSE) 2004-2008 (action n°21).

En accord avec le plan d'action préparé par la Direction Générale de la Santé (DGS) et annoncé lors du Comité national de sécurité sanitaire du 26 février 2003 sur les éthers de

glycol, et avec l'action 21 du PNSE[1], l'Afsset s'est auto-saisie pour établir un programme national sur les VTR visant à la constitution d'une expertise française solide et partagée par les différentes instances compétentes. Conformément à la demande originelle du Conseil Supérieur d'Hygiène Public de France (CSHPF), et compte tenu des préoccupations nationales et internationales actuelles, le domaine des substances chimiques toxiques sur la reproduction et le développement embryofœtal présentes dans différents milieux de vie a été proposé en priorité.

L'Afsset a mis en place un groupe de travail inter établissements regroupant l'Ineris, l'INRS, l'Afssa, l'InVS, l'ENSP, le Cnam, l'Inserm, le CNRS, les CAP et l'UIC afin de proposer une méthode de référence pour la construction de VTR pour les substances toxiques sur la reproduction et le développement et d'identifier quelles pourraient être les substances prioritaires devant faire l'objet de la construction de telles VTR. Cette réflexion, qui s'inscrit dans un contexte européen, vise principalement à développer une analyse critique sur le choix et la construction de VTR pour les substances chimiques reprotoxiques les plus préoccupantes.

Le groupe de travail s'est réuni à 12 reprises entre 2004 et 2006. Il a rendu deux rapports d'expertise :

- Un rapport intitulé « Identification d'une liste de substances toxiques pour la reproduction et le développement, et proposition d'une méthode de hiérarchisation pour l'analyse des valeurs toxicologiques de référence » et présenté au Comité d'experts spécialisés (CES) « évaluation des risques liés aux substances chimiques » le 28 janvier 2005 ;
- Un rapport intitulé « Document de référence pour la construction d'une valeur toxicologique de référence fondée sur des effets reprotoxiques » et présenté au CES évaluation des risques liés aux substances chimiques le 29 septembre 2006 ;

L'identification d'une liste de substances potentiellement reprotoxiques et hiérarchisées en fonction des composantes du risque, c'est-à-dire en tenant compte des critères indirects de danger et d'exposition (estimée d'après leur mention dans les listes de priorités nationales ou internationales), a conduit à proposer une liste de 50 substances d'intérêt. Cette liste est jointe en annexe de l'avis.

Par ailleurs, dans le cadre du développement de la méthode de construction de VTR reprotoxiques, une phase pilote a été réalisée de manière à « tester » la méthodologie proposée par le groupe de travail sur quelques substances modèles. A cette fin, l'Agence a fait appel à différents organismes d'expertise pour construire, selon le document de référence du groupe de travail, les VTR reprotoxiques des substances suivantes :

- Toluène (INERIS)
- Ether éthylique de l'éthylène glycol ou EGEE (INERIS)
- Linuron (Vincent Nedellec Consultant)
- Benzyl butyl phtalate ou BBP (Vincent Nedellec Consultant)
- Nonylphenol (ESMISAB/UBO, Technopôle Brest-Iroise)
- Di-n-butyl-phtalate ou DBP (ESMISAB/UBO, Technopôle Brest-Iroise)

[1] Action 21 du PNSE : développer des outils pour mieux évaluer les risques sanitaires des substances chimiques ou biologiques ».

Les rapports correspondants à ces 6 substances (qui figurent parmi les 15 premières de la liste hiérarchisée décrite ci-dessus) sont détaillés dans les annexes du document de référence. L'élaboration de ces VTR avait pour objet de valider la méthode proposée, les valeurs obtenues n'ont donc pas fait l'objet d'un avis du CES.

Après discussions et modifications, le CES a approuvé les rapport finaux du groupe de travail lors de sa séance du 1er décembre 2006.

Après analyse des rapports du groupe de travail et de l'avis du CES, et considérant la méthode de construction des VTR, qui se développe selon les quatre étapes suivantes :

- Définition des différents effets spécifiques de la substance et choix de l'effet critique ;
- Choix d'une étude de bonne qualité scientifique, permettant généralement de définir une relation dose-réponse ;
- Identification d'une dose critique à partir des doses expérimentales et des données épidémiologiques ;
- Application de facteurs d'évaluation à la dose critique ;

L'Agence:

▪ **Adopte** le rapport dans sa version finale de décembre 2006, comme document de référence pour la construction de VTR fondées sur des effets reprotoxiques ;

▪ **Souhaite** que cette méthode soit :

- appliquée pour la construction des futures VTR ;
- généralisée à tous les types d'effets critiques liés aux substances chimiques.

▪ **Propose** une liste de substances reprotoxiques prioritaire telle que définie en annexe pour la construction de VTR, à laquelle l'éthanol pourrait être ajouté, celui-ci faisant l'objet d'une saisine en cours à l'Afsset ;

Pour ce faire, l'Agence **recommande** :

- de rassembler les informations générales, issues des méthodes de construction de VTR reprotoxiques et de VTR cancérogènes des groupes de travail de l'AFSSET, dans un document unique ;

- de promouvoir sa diffusion au niveau national et européen ;

- de prévoir les modalités d'accompagnement de la production de telles VTR et leur cadre d'utilisation, notamment par :
  - la mise en place d'un processus d'élaboration avec l'identification du réseau d'experts et de partenaires qui seront mobilisés pour la construction de VTR reprotoxiques ;
  - la mise en place d'un processus de validation des VTR produites ;
  - la mise en place d'un processus régulier de révision des VTR produites ;

- la mise en place d'un système d'évaluation de leurs usages en favorisant les retours d'expérience ;
- une réflexion sur la codification et l'indexation de ces VTR, en particulier pour identifier leur origine, voie et durée d'exposition ;
- la mise en place d'un mode de diffusion et d'un accès adaptés, via les moyens de communications disponibles à l'AFSSET ;
- la publication d'un document à l'attention des usagers des VTR, sous forme de guide ou manuel d'utilisation, qui définit en particulier les conditions d'utilisation de ces VTR (domaine de validité, limites, interprétation) ;

- de promouvoir l'harmonisation des méthodes d'élaboration des VTR à l'échelle européenne ;

- de poursuivre les travaux par la construction de VTR reprotoxiques pour les substances d'intérêt ;

- de faire évoluer la méthode en fonction de l'acquisition de nouvelles connaissances scientifiques et en s'appuyant sur l'expérience acquise lors la construction des VTR, compte tenu des réflexions sur certains points critiques de la méthode de construction de VTR reprotoxiques.

Fait à Maisons-Alfort, le 16 avril 2007

Michèle Froment. Védrine

Dr Michèle FROMENT-VEDRINE

Annexe : liste des 50 premières substances potentiellement reprotoxiques, hiérarchisées suivant la méthode d'élaboration proposée par le groupe de travail de l'Afsset

Les substances potentiellement reprotoxiques ont été recherchées dans plusieurs bases de données aux objectifs différents. Certaines correspondent à des listes réglementaires, telle que la liste européenne des substances classées CMR reprotoxiques de catégorie 1, 2 ou 3 (dans le cadre de la Directive 67/548/CEE relative à la classification, l'emballage et l'étiquetage des substances dangereuses, et de ses adaptations au progrès technique), pour lesquelles un certain nombre d'obligations réglementaires sont mises en place en France et en Europe ; d'autres correspondent à des listes informatives, telle que la liste de l'OEHHA[2], pour lesquelles aucune classification réglementaire au titre de la reprotoxicité n'a été formalisée en France ou en Europe à notre connaissance.

Les substances classées CMR reprotoxiques de catégories 1, 2 ou 3 dans la réglementation européenne sont notées en gras dans le tableau (la dernière colonne indique la catégorie).

La méthode proposée par le groupe de travail ne permet pas en l'état actuel de hiérarchiser les substances selon le caractère avéré de la reprotoxicité chez l'homme ou l'animal car les listes de substances ayant servi à incrémenter la liste finale ne tiennent pas toutes compte de ce caractère toxique. Le résultat correspond donc simplement à l'identification de des substances qui ont été considérées, dans le cadre de ce travail, comme étant potentiellement reprotoxiques, chez l'homme ou chez l'animal.

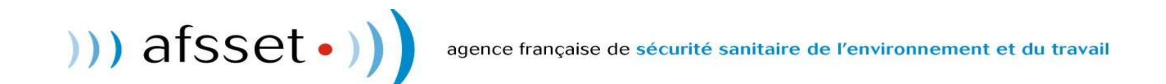
La méthode de hiérarchisation est un élément d'aide à la décision qui trouvera son intérêt dans une analyse plus complète intégrant la prise en compte des données toxicologiques et des données d'utilisation mises à jour régulièrement.

Ainsi, les 50 premières substances sélectionnées à partir de la méthode de hiérarchisation proposée par le groupe de travail devront faire l'objet d'une analyse complémentaire avant d'être sélectionnées pour la proposition de VTR fondées sur des effets reprotoxiques.

[2] Office of Environmental Health Hazard Assessment. L'OEHHA est une agence gouvernementale californienne dépendant de l'US EPA de Californie, dont les missions snt axées autour de la protection de la santé publique et de l'évaluation des risques des substances dangereuses.

Numéro CAS			Nom chimique	Score danger	Score expo-sition	Score total	CMR Repr Cat*
117	81	7	Phtalate de di(2-ethylhexyl)	12	12	1,750	2
85	68	7	Phtalate de benzyle et de butyle	12	10	1,583	2-3
84	74	2	Phtalate de dibutyle	10	10	1,458	2-3
7440	43	9	Cadmium	7	9	1,188	3
7439	92	1	Plomb	10	6	1,125	1-3
118	74	1	Hexachlorobenzène	6	9	1,125	
108	88	3	Toluène	7	8	1,104	3
25154	52	3	Phénol, nonyl-	5	9	1,063	3
110	80	5	Ethylène glycol éthyléther	10	5	1,042	2
17804	35	2	Bénomyl	14	2	1,042	2
71	43	2	Benzène	4	9	1,000	
100	42	5	Styrène	2	10	0,958	
111	15	9	Ethylène glycol éthyléther, acétate	10	4	0,958	2
330	55	2	Linuron	10	4	0,958	2-3
50471	44	8	Vinclozoline	10	4	0,958	2
58	89	9	Hexachlorocyclohexane gamma-	4	8	0,917	
67	66	3	Chloroforme	2	9	0,875	
7440	02	0	Nickel	2	9	0,875	
50	29	3	Dichlorodiphényl-trichloroéthane, p-p'-	6	6	0,875	
109	86	4	Ethylène glycol méthyléther	10	3	0,875	2
75	15	0	Disulfure de carbone	7	5	0,854	3
106	46	7	Dichlorobenzène, 1,4-	4	7	0,833	
1912	24	9	Atrazine	4	7	0,833	
106	99	0	Butadiène, 1,3-	4	7	0,833	
96	12	8	Dibromo-3-chloropropane, 1,2-	12	1	0,833	1
1836	75	5	Nitrofène	8	4	0,833	2
80	05	7	Bisphénol A	5	6	0,813	3
1746	01	6	2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-p-dioxine	6	5	0,792	
68	12	2	N,N-diméthylformamide	6	5	0,792	2
110	49	6	Ethylène glycol méthyléther, acétate	10	2	0,792	2
88	85	7	Dinosèbe	10	2	0,792	2-3
630	08	0	Monoxyde de carbone	8	3	0,750	1
1344	37	2	Jaune de sulfochromate de plomb	8	3	0,750	1-3
7758	97	6	Chromate de plomb	8	3	0,750	1-3
121	14	2	Dinitrotoluène, 2,4-	5	5	0,729	3
79	01	6	Trichloroéthylène	2	7	0,708	
108	95	2	Phénol	2	7	0,708	
127	18	4	Tétrachloroéthylène	2	7	0,708	
50	32	8	Benzo[a]pyrène	6	4	0,708	2
7439	97	6	Mercure	6	4	0,708	
87	86	5	Pentachlorophénol	6	4	0,708	
7775	11	3	Chromate de sodium	6	4	0,708	2
7778	50	9	Dichromate de potassium	6	4	0,708	2
7789	09	5	Dichromate d'ammonium	6	4	0,708	2
32536	52	0	Oxyde de diphényle, dérivé octabromé	6	4	0,708	2-3
1333	82	0	Chrome, trioxyde de	3	6	0,688	3
115	29	7	Endosulfan	4	5	0,667	
12427	38	2	Maneb	4	5	0,667	
106	94	5	Bromopropane, 1-	8	2	0,667	2-3
12656	85	8	Rouge de chromate, de molybdate et de sulfate de plomb	8	2	0,667	1-3

* les numéros de catégories des substances classées « CMR » reprotoxiques correspondent respectivement aux effets sur la fertilité ou aux effets sur le développement.



Document de Référence

pour

La construction d'une valeur toxicologique de référence fondée sur des effets reprotoxiques

RAPPORT

Du Groupe d'Experts « VTR reprotoxiques »

Décembre 2006

253 Avenue du Général Leclerc - 94701 MAISONS-ALFORT CEDEX
☎ 01 56 29 19 30 - 🖷 01 43 96 37 67 - http://www.afsset.fr

GROUPE D'EXPERTS

Organismes

AFSSA	représentée par	M. Sébastien GARRY, unité d'évaluation des risques physico-chimiques ; M. François BORDET, analyste et physicochimiste, unité toxines, polluants organiques et pesticides, laboratoire d'études et de recherche sur la qualité des aliments et sur les procédés agro-alimentaires ;
CAP-TV	représentés par	M. Robert GARNIER, toxicologue, centre antipoison de Paris ;
CNAM	représenté par	M. Maurice RABACHE, toxicochimiste, laboratoire de biologie ; M. André PICOT, Directeur de recherche honoraire ;
ENSP	représentée par	M. Denis BARD, épidémiologiste et évaluateur de risques ;
INERIS	représenté par	Mme Blandine DOORNAERT, toxicologue, unité d'expertise toxicologique des substances chimiques ;
INRS	représenté par	M. Dominique LAFON, toxicologue, département études et assistance médicales ;
INSERM	représenté par	M. Luc MULTIGNER, épidémiologiste, U625, groupe d'études sur la reproduction de l'homme et des mammifères ;
InVS	représenté par	M. Frédéric DOR, évaluateur de risques, département santé environnement ; M. Pascal EMPEREUR-BISSONNET, évaluateur de risque, département santé environnement ;
UIC	représenté par	M. Patrick LEVY, toxicologue, médecin conseil de l'union des industries chimiques.

Coordination scientifique

Mme Nathalie BONVALLOT – Afsset

Appui scientifique de l'Afsset et participation à la rédaction

Mme Nathalie BONVALLOT, toxicologue

M. Cédric Duboudin, statisticien

Mme Cécilia SOLAL, toxicologue

Prestations pour la phase de test

Mme Dominique Parent-Massin et M. Bertrand Jehannin, Université de Bretagne Occidentale, laboratoire de toxicologie alimentaire, Brest.

M. Vincent Nedellec, Vincent Nedellec Consultants (VNC), Paris.

Mmes Blandine Doornaert et Michèle Bisson, INERIS, direction des risques chroniques, expertise toxicologique des substances chimiques, Verneuil en Halatte.

Secrétariat administratif de l'Afsset

Mme Séverine BOIX

Mme Romy COLLET

ADOPTION DU RAPPORT

Le rapport a été approuvé par les membres du groupe de travail le 13 novembre 2006.

Ce rapport a été soumis au CES « Substances Chimiques » le 29 septembre 2006 et adopté le 1er décembre 2006.

PREAMBULE

Ce document a été rédigé dans le cadre du groupe de travail « VTR & reprotoxicité » coordonné par l'Afsset et composé d'experts appartenant aux principaux organismes français ayant compétence d'expertise et de veille en sécurité sanitaire, mettant en œuvre ou enseignant la démarche de l'évaluation quantitative du risque sanitaire (Afssa, CAP/TV, Cnam, ENSP, Ineris, INRS, Inserm, InVS, UIC[1]). Il vise à organiser les connaissances scientifiques nécessaires aux choix argumentés qui sont faits lors de la construction de valeurs toxicologiques de référence fondées sur les effets sur la reproduction et le développement, qui seront appelées dans la suite du document « VTR reprotoxiques ».

Il est destiné aux experts compétents dans les domaines de la toxicologie, de la biologie de la reproduction et du développement, de l'épidémiologie et des biostatistiques, qui auront la tâche de constituer un document de synthèse en vue de la construction d'une VTR reprotoxique.

Ce document méthodologique est provisoire. Dans la mesure où les connaissances évoluent et où la possibilité de construire des VTR entraîne l'acquisition d'une expérience, il sera amélioré au vu des nouveaux éléments portés à la connaissance de la communauté scientifique. Il a déjà bénéficié d'un premier retour d'expérience qui a consisté à tester la méthode proposée sur six substances possédant ou non des VTR.

Ce document détaille la méthode d'élaboration de VTR fondées sur des effets reprotoxiques, quand bien même une VTR numériquement plus faible existe ou pourrait être développée sur des effets non reprotoxiques. La construction d'une VTR pour un effet spécifique reprotoxique se justifie par :

- la mise en évidence d'effets sur le développement survenant pour des durées d'exposition particulières (fenêtre d'exposition courtes) ;
- la nécessité de disposer d'une réponse spécifique aux effets reprotoxiques dans le cadre de la protection de la santé publique.

---

[1] Afssa : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments ; CAP/TV : Centres Anti-poison et de Toxicovigilance ; Cnam : Conservatoire National des Arts et Métiers ; CNRS : Centre National de la Recherche Scientifique ; ENSP : Ecole Nationale de la Santé Publique ; Ineris : Institut National de l'environnement et des risques industriels ; INRS : Institut National de Recherche et de Sécurité ; Inserm : Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale ; InVS : Institut de Veille Sanitaire ; UIC : Union des Industries Chimiques.

Ce rapport est découpé en plusieurs parties : la première, comprenant les chapitres 1 à 4, est destinée à expliciter la méthode de construction des VTR reprotoxiques telle qu'elle existe aujourd'hui, à en explorer les termes et les démarches sous-jacentes, et à identifier l'ensemble des éléments utiles à l'organisation des connaissances et à la construction de VTR. Cette partie regroupe ainsi un chapitre sur les postulats identifiés dans la construction d'une VTR reprotoxique (chapitre 1), un chapitre sur la définition des effets néfastes reprotoxiques (chapitre 2), deux chapitres sur l'analyse de la qualité des études épidémiologiques et toxicologiques, et des données complémentaires (chapitres 3 et 4).

La seconde partie, comprenant le chapitre 5, est destinée à organiser les connaissances de la meilleure façon afin de retirer tous les éléments nécessaires à la construction d'une VTR reprotoxique. Elle est organisée à la façon d'un « cahier des charges » qui s'appuie sur les éléments de connaissances de la première partie.

Enfin, la troisième partie, au chapitre 6, explicite les choix à faire pour la construction de la VTR reprotoxique. Cette phase de la démarche nécessite une expertise collégiale qui s'appuie sur les éléments fournis au chapitre 5.

SOMMAIRE

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

CONTEXTE

En 2002, un groupe d'experts du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France (CSHPF) a conduit une évaluation quantitative des risques sanitaires liés à l'exposition de la population aux éthers de glycol au travers des produits de consommation[2]. Au terme de cette démarche, le groupe précisait notamment que la recherche de valeurs toxicologiques de référence (VTR) pour les effets sur la reproduction et le développement embryofœtal avait été peu fructueuse. D'une manière générale, peu de VTR pour ces effets sont proposées, même lorsque des informations scientifiques sont disponibles. Ce travail a montré combien devait être soigneuse la démarche de caractérisation des dangers, exercice qui exige une analyse critique approfondie de l'ensemble de la littérature scientifique, et l'adoption de règles de jugement claires et explicites. Il s'agit là d'un domaine de toxicologie qui doit être développé en priorité. La mise en lumière de ces difficultés d'ordre scientifique a conduit le groupe d'experts mis en place à envisager une réflexion sur les VTR au sein des instances nationales compétentes. Par ailleurs, le CSHPF, dans son avis du 7 novembre 2002, précisait que d'importantes améliorations devaient être apportées au dispositif d'évaluation des risques liés aux substances chimiques et insistait sur l'urgence d'organiser et de renforcer en France l'expertise dans ce domaine, celle-ci devant pouvoir bénéficier de l'appui scientifique et technique d'une instance publique spécialisée[3].

La connaissance des méthodes de construction des valeurs toxicologiques de référence (VTR)[4] permet aujourd'hui d'avoir un avis plus éclairé sur l'utilisation de la toxicologie au sein de la démarche d'évaluation des risques sanitaires. L'élaboration des VTR suit une démarche très structurée et exigeante qui implique des évaluations collectives par des groupes de spécialistes. C'est une procédure lourde, aux conséquences majeures en terme de gestion des risques.

L'Afsset a pour mission de contribuer à assurer la sécurité sanitaire dans le domaine de l'environnement, notamment en mobilisant l'expertise scientifique et technique nécessaire à l'évaluation du risque. La qualité de cette expertise nécessite la production continue de connaissances et de développements méthodologiques variés recouvrant de nombreux champs de compétences scientifiques. Par ailleurs, le développement d'outils pour mieux évaluer les risques sanitaires des substances chimiques ou biologiques fait partie des actions du plan national santé environnement (PNSE) 2004-2008 (action n°21).

---

[2] Les éthers de glycols dans les produits de consommation et la santé. Groupe d'experts du CSHPF, section des milieux de vie. Rapport d'avancement au Directeur Général de la Santé. 21 juin 2002.

[3] Avis du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France relatif aux éthers de glycol dans les produits de consommation. Section des milieux de vie. Séance du 7 novembre 2002. http://www.sante.gouv.fr/

[4] Bonvallot N, Dor F. Valeurs toxicologiques de référence : Méthodes d'élaboration. InVS. 2002. 84p.

Ainsi, en accord avec le plan national santé environnement, l'Afsset a proposé, dans le cadre de ses missions[5] et dans un souci de transparence et de cohérence, d'établir un programme national sur les VTR visant à la constitution d'une expertise française solide et partagée par les différentes instances compétentes. L'Afsset a donc proposé à ses partenaires d'initier cette réflexion par la mise en place d'un groupe de travail regroupant l'Ineris, l'INRS, l'Afssa, l'InVS, l'ENSP, le Cnam, l'Inserm, le CNRS, les CAP-TV et l'UIC. Le très vaste domaine que recouvre la notion de VTR a contraint l'Afsset à déterminer une priorité d'action. Conformément à la demande originelle du CSHPF, et compte tenu des préoccupations nationales et internationales actuelles, le domaine des substances chimiques toxiques sur la reproduction et le développement embryofœtal dans les milieux de vie a été proposé. Cette réflexion, qui s'inscrira dans le paysage européen, vise principalement à porter un regard critique et constructif sur le choix et la construction de VTR pour les substances chimiques reprotoxiques préoccupantes. Elle a pour vocation, à plus long terme, de s'intégrer dans le dispositif de santé publique (proposition de valeurs guides de qualité des milieux, *etc.*).

Après une analyse de la littérature internationale sur les VTR et une revue critique des effets sur la reproduction et le développement, une approche générale d'élaboration de VTR reprotoxiques a été définie, suivie d'une phase pilote de test ayant pour objectif de s'assurer que la méthode proposée, en l'état, est adaptée pour la construction de VTR reprotoxique et de réaliser un premier retour d'expérience pratique. Pour cette étape, des équipes scientifiques pluridisciplinaires ont construit, sur la base de la méthode proposée, des VTR reprotoxiques pour six substances (le 2-éthoxyéthanol, le linuron, le di-n-butylphtalate, le benzylbutylphtalate, le nonylphénol, le toluène). Les résultats de cette phase pilote sont détaillées dans les annexes 2 et 3.

Parallèlement, un groupe de travail intitulé « VTR Cancer » a été mis en place. Les réflexions issues de ces deux groupes ont permis un enrichissement mutuel des travaux réalisés.

---

[5] Rassembler les informations scientifiques pertinentes en évaluation des risques sanitaires *par ses moyens propres ou ceux de ses partenaires* ; informer, former et diffuser l'information scientifique ; encourager et s'assurer de la coordination de la production de connaissances dans le domaine de la santé environnementale.

ACRONYMES

ADELF : Association des Epidémiologistes de Langue Française.

ADME : Absorption, Distribution, Métabolisation, Elimination.

AFNOR : Association Française de Normalisation et de Certification.

ATSDR : Agency for Toxic Substances and Disease Registry.

BMD : BenchMark Dose.

BMDxLy : Limite inférieure de l'intervalle de confiance à y % de la dose correspondant à un niveau de réponse de x %.

BMR : BenchMark Response.

BUA : Beratergremium für Umweltrelevante Altstoffe (Advisory Committee on Existing Chemicals of Environmental Relevance, German Chemical Society).

CERHR : Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction.

DART : Developmental and Reproductive Database.

DIN : Deutsches Institut für Normung (Institut allemand pour la normalisation, Allemagne).

EC : European Commission.

ECB : European Chemical Bureau.

ECETOC : European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals.

EQRS : Evaluation Quantitative des Risques Sanitaires.

FDA : Food and Drug Administration (Etats-Unis).

GEE : Generalized Estimating Equations.

HAP : Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques.

HSDB : Hazardous Substances DataBank.

IARC : International Agency for Research on Cancer.

ICH : International Conference on Harmonisation.

IEH : Institute of Environmental Health (Medical Research Council, UK).

IPCS : International Programme on Chemical Safety.

IRIS : Integrated Risk Information System.

JECFA : Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives.

JMPR : Joint Meeting on Pesticide Residues.

LOAEL : Lowest Observed Adverse Effect Level (Dose minimale entraînant un effet néfaste observé).

MAXSD : MAXimum Safety Dose.

NCEA : National Center for Environmental Assessment (US EPA).

NIESH : National Institute of Environmental Health Sciences.

NOAEL : No Observed Adverse Effect Level (Dose maximale sans effet néfaste observé).

NTP : National Toxicology Programme.

OCDE : Organisation de Coopération et de Développement Economique.

OEHHA : Office of Environmental Health Hazard Assessment (EPA California).

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

PBPK : Physiologically-Based PharmacoKinetic.

PCB : PolyChloroBiphényléthers.

REACH : Registration, Evaluation and Authorization of Chemicals.

TGD : Technical Guidance Document.

UF : Uncertainty Factors (facteurs d'incertitude, autrement dénommés FS pour facteurs de sécurité).

US EPA : United State Environmental Protection Agency.

VTR : Valeur Toxicologique de Référence.

GLOSSAIRE

BMD (Benchmark Dose) : dose correspondant à un niveau de réponse fixé a priori (généralement 1, 5 ou 10 %), calculée à partir de la relation dose – réponse chez l'animal ou l'homme.

BMDL : limite inférieure de l'intervalle de confiance généralement à 95 % de la BMD.

BMR (Benchmark Response) : niveau de réponse associé à la Benchmark dose.

Doses repères : les doses repères correspondent aux différents niveaux de toxicité définis dans les expérimentations animales, tels que les NOAEL, LOAEL, BMD, BMDL ou MAXSD.

Dose critique : la dose critique est définie comme la dose repère retenue pour la construction de la VTR.

Effet critique : effet néfaste observé, choisi pour définir la dose critique.

Effet néfaste : tout changement dans la morphologie, la physiologie, la croissance, le développement ou la durée de vie d'un organisme, résultant soit d'une détérioration de la capacité fonctionnelle ou de la capacité à compenser un stress additionnel, soit d'une augmentation de sensibilité.

Facteurs d'incertitude : nom générique donné par le groupe de travail aux facteurs appliqués à la dose critique lors de la construction d'une VTR à seuil. Ils correspondent aux facteurs utilisés pour tenir compte d'une part de la variabilité dans les transpositions intra- et inter-espèces et d'autre part des incertitudes dans les bases de données toxicologiques. Ces facteurs sont autrement dénommés « facteurs de sécurité ».

LOAEL (Lowest Observed Adverse Effect Level) : dose minimale entraînant un effet considéré comme néfaste statistiquement significatif par rapport au témoin.

MAXSD (Maximum Safe Dose) : dose maximale n'entraînant pas un effet supérieur à un seuil fixé par rapport au témoin.

NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) : dose maximale n'entraînant pas d'effet néfaste statistiquement significatif par rapport au témoin, issue de l'identification du LOAEL. Autrement dit, c'est la dose testée qui précède directement le LOAEL.

Parturition : action, fait d'accoucher, de mettre bas (expression fréquemment utilisée pour les animaux de laboratoire dans les lignes directrices pour les essais de toxicité).

Relation dose – effet : relation entre la quantité totale d'une substance administrée, reçue ou absorbée par un organisme, système biologique ou (sous-)population et l'amplitude d'un effet toxique observé (intensité et durée de l'effet).

Relation dose – réponse : relation entre la quantité totale de substance administrée, reçue ou absorbée par un organisme, système biologique ou (sous-)population et l'incidence ou la fréquence d'un effet toxique observé. L'identification de la relation dose – réponse constitue l'une des étapes – clés de l'évaluation de risques (caractérisation du danger).

Réponse continue : mesure quantitative d'un effet observé sur un organisme dans un test toxicologique. Il s'agit souvent d'un indicateur biologique ou d'une variation morphologique d'un organe.

Réponse quantale : réponse dichotomique de type « présence » ou « absence » d'effet dans un test toxicologique, ou réponse qualitative ordonnée (dénombrement en classe de type sévérité forte, modérée ou faible). Ce type de réponse est utilisé lorsque l'effet considéré n'est pas observé dans des conditions de non exposition. Elle est décrite par une variable discrète.

Transposabilité : il s'agit de la possibilité de transposer des données animales à des données humaines.

VTR (Valeurs toxicologiques de référence) : valeurs établies par des instances nationales ou internationales, caractérisant le lien entre une exposition à une substance toxique et l'occurrence d'un effet néfaste observé.

INTRODUCTION

Les valeurs toxicologiques de référence (VTR) sont des valeurs permettant d'établir une relation quantitative et qualitative entre une exposition à une substance chimique et un effet sanitaire chez l'homme. Elles sont spécifiques d'une substance, d'une durée d'exposition (aiguë, de quelques heures à une semaine ; intermédiaire, d'une semaine à plusieurs mois ; chronique, de quelques années[6] à la vie entière) et d'une voie d'exposition (voies orale et respiratoire). Leur construction diffère en fonction de l'hypothèse formulée ou des données acquises sur les mécanismes d'action toxique de la substance. En l'état actuel des connaissances et des conventions, on considère généralement qu'il n'existe pas de seuil de dose pour les effets cancérogènes génotoxiques et que la toxicité ne s'exprime qu'au-delà d'un seuil de dose pour les autres effets. Ce postulat peut être remis en cause dans les cas où des informations montrant le contraire sont disponibles. Pour les VTR construites à partir d'un effet critique reprotoxique, l'hypothèse par défaut est donc de considérer l'existence d'un seuil. Dans ce cas, elles s'expriment soit en quantité de substance par kilogramme de poids corporel et par jour (par exemple, $mg.kg^{-1}.j^{-1}$) pour la voie orale, soit en quantité de substance par mètre cube d'air (par exemple, $mg.m^{-3}$) pour la voie respiratoire. Il n'existe pas, à l'heure actuelle, de méthode conventionnelle pour élaborer des VTR spécifiques à la voie cutanée.

Les VTR sont construites à partir de données sur les relations dose – réponse ou dose – effet obtenues lors d'expérimentations animales ou directement chez l'homme lors d'études épidémiologiques. Bien que l'utilisation d'études chez l'homme soit privilégiée pour la construction de VTR, les études animales sont en pratique la source majeure de données toxicologiques pour la construction de VTR, d'une part car les études épidémiologiques exploitables pour construire une VTR ne sont pas nombreuses, d'autre part car l'utilisation de doses élevées chez l'animal permet d'observer des signes manifestes de toxicité et assure une meilleure appréciation de l'organe cible et d'un effet spécifique.

Mathématiquement, la construction d'une VTR pour une substance dont les effets sont considérés à seuil est définie de la manière suivante :

$$VTR = \frac{Dose\ critique}{UF}$$

[6] Pour l'ATSDR, la notion de VTR chronique s'applique dès que l'homme est exposé quotidiennement pendant plus d'une année. Pour l'US EPA, elle s'applique dès que l'homme est exposé quotidiennement pendant plus de 7 années (correspondant au dixième de la durée de vie fixée à 70 ans).

La dose critique peut être un NOAEL, un LOAEL ou une BMD définis comme tels :

- le LOAEL (*Lowest Observed Adverse Effect Level*) est la dose minimale entraînant un effet néfaste statistiquement significatif par rapport au témoin ;
- le NOAEL (*No Observed Adverse Effect Level*) est la dose maximale n'entraînant pas d'effet néfaste statistiquement significatif par rapport au témoin, située directement sous le LOAEL dans les doses du protocole ou dans les expositions identifiées ;
- la BMD (*Benchmark Dose*) est une dose produisant un niveau ou un pourcentage défini de réponse.

UF représente le facteur d'incertitude global appliqué.

La notion de MAXSD explicitée plus tard dans ce document, malgré son intérêt, n'est pas utilisée dans la pratique actuelle pour la construction de VTR.

Aussi, la construction de la VTR comprend les quatre étapes suivantes :

- **définir les différents effets** spécifiques de la substance et qui se produisent pour différents types d'exposition, retenir ceux qui semblent être une manifestation directe d'une toxicité et **choisir** celui qui est mis en évidence pour les plus faibles doses administrées : c'est l'effet critique ;

- **retenir une étude** de bonne qualité scientifique permettant généralement d'établir une relation dose – réponse (ou dose – effet) ;

- **identifier une dose critique** à partir des doses expérimentales et/ou des données épidémiologiques ;

- **appliquer des facteurs d'incertitude** à la dose critique pour obtenir une VTR.

Après un rappel de la construction d'une VTR, le présent document structure la réflexion de la démarche sur ces 4 étapes.

1. POSTULATS DANS LA CONSTRUCTION D'UNE VTR REPROTOXIQUES

1.1. Relation dose – effet et dose – réponse

En l'état actuel des connaissances, l'hypothèse par défaut est de considérer une relation monotone entre l'exposition, ou la dose, et l'effet, ou la réponse.

1.2. Effets à seuil de dose

Il est *a priori* admis qu'il existe un seuil de dose pour les substances chimiques induisant un effet sur la reproduction et/ou le développement, sauf si des données tendent à montrer qu'il n'y a pas de seuil [Moore *et al.*, 1995 ; US EPA, 1991, 1996]. Il s'agit donc d'une hypothèse par défaut. De ce fait, la VTR se calcule en divisant la dose critique choisie par un certain nombre de facteurs d'incertitude.

Dans le cadre où une absence de seuil aurait été mise en évidence, la méthode de construction de VTR proposée dans ce document ne s'applique pas. L'évaluateur pourra se reporter au document spécifique sur la construction des VTR cancérogènes, qui explicite les choix à effectuer en cas d'absence de seuil[7].

> A noter que certaines substances peuvent avoir un potentiel reprotoxique découlant directement de leur caractère mutagène sur les cellules germinales. En fonction de l'effet mis en évidence et des connaissances sur ces mécanismes d'action, les VTR proposées pour ces substances pourront être des VTR sans seuil.

1.3. Transposition de l'animal à l'homme

La première étape de la transposition est d'étudier la plausibilité des effets chez l'homme, qui nécessite de s'assurer de la cohérence des effets entre l'animal et l'homme.

Bien que les études humaines soient privilégiées, en pratique, les études animales sont plus souvent utilisées pour la construction des VTR, pour tous les types d'effets. En effet, ces études animales permettent de mettre en évidence des signes de toxicité manifestes pour des expositions précises et sont plus nombreuses. Il est donc important de s'assurer de la validité des modèles animaux utilisés. Pour cela, l'idéal est d'utiliser des études expérimentales dont l'espèce et la souche ont une sensibilité la plus proche possible de celle de l'homme. Cette assertion n'étant pas toujours vérifiable, la plausibilité des effets d'une espèce à l'autre peut être renforcée par l'utilisation d'espèces différentes. Dans tous les cas, l'hypothèse par défaut est que **l'effet mis en évidence chez l'animal peut également se produire chez l'homme, à moins que l'analyse du mode d'action permette de démontrer le contraire** (dans ce cas, la construction d'une VTR n'est pas pertinente pour cet effet). Par ailleurs, concernant précisément les effets sur le

[7] Construction de VTR pour les substances cancérogènes, Afsset, en cours de publication.

développement, toutes les manifestations de toxicité sont à prendre en compte : malformations, altérations de la croissance, et déficiences fonctionnelles. Les types d'effets observés peuvent être différents d'une espèce à l'autre. **Il est donc convenu que l'augmentation significative de toute manifestation toxique considérée comme néfaste sera prise en compte pour évaluer les effets sur le développement chez l'homme** [US EPA, 1991]. Il peut ainsi s'agir d'une augmentation d'incidence de malformations, d'anomalies fœtales ou tout autre type d'effet défini dans ce document.

La deuxième étape de la transposition nécessite de s'assurer de la cohérence entre les données toxicocinétiques et toxicodynamiques chez l'animal et chez l'homme.

Les différences de cinétique et de métabolisme d'une substance entre plusieurs espèces sont parfois reflétées par l'application d'un coefficient d'ajustement tenant compte, pour une exposition orale, de la surface corporelle (paramètre physiologique propre à chaque espèce), et, pour une exposition respiratoire, du taux d'inhalation (paramètre physiologique) et des coefficients de partage entre l'air et le sang (paramètres physicochimiques liés à la substance).

Par ailleurs, lorsque les données expérimentales de toxicodynamie ne sont pas disponibles, **l'hypothèse posée par défaut est de considérer l'homme plus sensible que l'animal**, aux variations allométriques près détaillées ci-dessus. Cette hypothèse se traduit par l'application du facteur d'incertitude inter-espèces détaillé dans le chapitre 6.2 et est valable quels que soient les effets étudiés (reprotoxiques ou non).

1.4. Durée et période d'exposition : validité de la VTR

Il s'agit ici de préciser les conditions d'application des VTR qui seront construites : les effets reprotoxiques surviennent après des durées d'exposition plus ou moins longues à des périodes différentes du cycle de la reproduction, chez l'homme et chez la femme. Par exemple, lors d'une grossesse, il peut suffire d'une exposition sur une seule journée pour provoquer une malformation ; pour la fertilité, les effets peuvent survenir pour des expositions de plusieurs semaines, voire plus. Il est donc important d'en tenir compte lors de la proposition de VTR. Toutefois il n'est pas possible actuellement d'établir un tableau exhaustif des validités des VTR en fonction des durées d'exposition, des périodes d'exposition et des types d'effets. L'utilisation et l'interprétation de ces VTR devra donc obligatoirement tenir compte de la durée d'exposition, de la période d'exposition et du type d'effet auquel elle est associée.

A titre d'exemple, trois types de VTR peuvent être construites :

- **des VTR aiguës**. Par exemple, pour l'étude des effets **sur le développement embryofœtal** (dont les conséquences peuvent être révélées aussi bien à la naissance que plus tardivement), les durées d'exposition des rongeurs dans les études expérimentales peuvent

être de 1 jour à une dizaine de jours, pendant l'organogenèse[8]. En s'appuyant sur ces protocoles expérimentaux, sur les connaissances de l'organogenèse et sur la durée d'exposition critique nécessaire pour qu'une substance engendre un effet néfaste sur le développement, en absence d'éléments précis sur l'organogenèse, **les VTR aiguës construites seront valides pour des durées d'exposition d'une journée** ;

- **des VTR subchroniques**. Par exemple, pour l'étude des effets sur **le développement pré et post-natal**, les durées d'exposition dans les études expérimentales chez le rongeur sont d'une quarantaine de jours (la période d'exposition couvre la gestation et la lactation jusqu'au sevrage). En s'appuyant sur ces protocoles expérimentaux, les **VTR subchroniques construites seront valides pour des durées d'exposition de 28 jours à une année ;**

- **des VTR chroniques**. Par exemple, pour l'étude des effets **sur la fertilité**, les durées d'exposition des animaux dans les études expérimentales suivant les lignes directrices de l'OCDE (chez le mâle ou la femelle) sont généralement au moins égales à la durée d'un cycle de fertilité (une cinquantaine de jours pour le rongeur mâle, 4 à 5 jours pour le rongeur femelle) et peuvent se prolonger dans le cas des études multigénérationnelles. **En s'appuyant sur la connaissance des cycles de fertilité humaine[9] et sur les protocoles expérimentaux, des VTR chroniques peuvent être construites, pour une durée d'exposition chez l'homme à partir d'une année.**

Au final, il est important de bien caractériser les types de toxicités liés à une substance et la durée d'exposition sur lesquels s'appuiera la construction des VTR, car leur domaine de validité ne sera pas le même. Il sera ainsi possible de construire, pour une même substance, des VTR reprotoxiques pour des durées d'exposition aiguë, subchronique ou chronique, en fonction des effets mis en évidence. Ces durées d'exposition devront être clairement explicitées pour chacune des VTR construites.

---

[8] L'organogenèse chez le rat dure 10 jours. Elle est d'environ 80 jours chez l'homme.

[9] Cycle de fertilité chez le mâle : la spermatogenèse est un processus cyclique d'une durée approximative de 72 jours chez l'homme (56 chez le rat et 70 chez le lapin), qui met en jeu trois grandes lignées constituant le testicule : les cellules germinales, les cellules de Sertoli et les cellules de Leydig. Dans les protocoles expérimentaux standardisés de l'OCDE (415 et 416), la durée d'exposition de l'étude doit être d'au moins un cycle pour les études sur une génération (donc 56 jours chez le rat et 70 chez le lapin pour la première génération, correspondant à 72 jours chez l'homme) et peut se poursuivre pendant le développement et la croissance de la progéniture mâle pour les études sur deux générations (exposition chronique pour la deuxième génération). Les VTR peuvent ainsi être valables pour des expositions humaines subchroniques ou chroniques (en fonction de l'effet mis en évidence chez le mâle, de la connaissance des lignées cellulaires atteintes, de la capacité à engendrer des effets cumulatifs et de l'étude utilisée pour les construire).
Cycle de fertilité chez la femelle : le cycle oestral est un processus d'une durée approximative de 28 jours chez la femme (4-5 jours chez le rat et la souris). De même que pour l'homme, en fonction de l'étude utilisée, la VTR proposée pourra être valable pour des expositions subchroniques ou chroniques.

2. EFFETS NEFASTES REPROTOXIQUES A PRENDRE EN COMPTE

2.1. Définition des effets reprotoxiques

2.1.1. Effets sur la reproduction

2.1.1.1. Effets sur la reproduction masculine

Ce sont les effets sur les organes reproducteurs, le système hormonal correspondant ou la conception de l'enfant, résultant d'une exposition à n'importe quel moment de la vie de l'individu masculin.

Les manifestations majeures de cette toxicité comprennent les effets sur l'initiation et le déroulement de la puberté et de la maturation sexuelle, sur la production ou le transport des spermatozoïdes (nombre, motilité, altérations morphologiques), le comportement sexuel (libido, érection…), la fertilité (la fertilité est la capacité biologique déterminée par les items précédents), l'activité hormonale ou la réponse physiologique qui perturberait la capacité de fécondation, la fécondation elle-même ou le développement de l'ovule fécondé jusqu'à, et y compris, l'implantation, un vieillissement prématuré des organes reproductifs ou une modification des fonctions de la progéniture dépendant de l'intégrité du système reproductif masculin [European Commission, 1967 ; US EPA, 1996].

2.1.1.2. Effets sur la reproduction féminine

Ce sont les effets sur les organes reproducteurs, le système hormonal correspondant ou la conception de l'enfant, résultant d'une exposition à n'importe quel moment de la vie de l'individu féminin.

Les manifestations majeures de cette toxicité comprennent les effets sur l'initiation et le déroulement de la puberté et de la maturation sexuelle, sur la production et le transport des ovules, le cycle menstruel, le comportement sexuel (libido…), la fertilité (la fertilité est la capacité biologique déterminée par les items précédents), la gestation, la parturition, la lactation, l'activité hormonale ou la réponse physiologique qui perturberait la capacité de fécondation, la fécondation elle-même ou le développement de l'ovule fécondé jusqu'à, et y compris, l'implantation, une ménopause prématurée ou une modification des fonctions de la progéniture dépendant de l'intégrité du système reproductif féminin [European Commission, 1967 ; US EPA, 1996].

Enfin, lorsque des effets reprotoxiques ont été mis en évidence dans les études humaines ou animales, et que leur caractère néfaste a été souligné dans la mesure du possible, la construction de la VTR nécessite de choisir un effet spécifique appelé effet critique.

2.1.2. Effets sur le développement

La toxicité sur le développement est considérée dans son sens le plus large, y compris tout effet perturbant le développement normal de l'enfant, aussi bien avant qu'après la naissance. Elle correspond aux effets sur l'enfant résultant d'une exposition des parents avant la conception, pendant le développement embryofœtal ou pendant la période de lactation.

Les manifestations majeures de cette toxicité diffèrent en fonction des fenêtres d'exposition et des cibles. Elles comprennent les effets embryo- ou fœtotoxiques, réversibles ou irréversibles, tels que mort prématurée, fausse couche précoce ou tardive, anomalies structurelles (effets tératogènes), altérations de la croissance intra-utérine, déficiences fonctionnelles (toxicité pour les organes et systèmes), les anomalies péri- ou post-natales ainsi que les anomalies du développement mental ou physique, de la naissance à la maturation sexuelle [European Commission, 1967 ; US EPA, 1991]. Il n'existe pas de définitions consensuelles pour chaque type d'effets sur le développement, aussi seront reprises ci-dessous celles proposées par l'US EPA [US EPA, 1991].

2.1.2.1. Malformations

Les malformations sont définies comme des altérations irréversibles qui affectent la survie de l'organisme, le développement ou une fonction particulière. Elles correspondent à la tératogénicité.

Il existe d'autres types d'effets malformatifs, appelés « variations », considérées comme des altérations mineures de la constitution structurelle de l'organisme. Notons que la différence entre une anomalie congénitale mineure et une variation n'est pas toujours évidente et qu'il est préférable de rester prudent lors de l'interprétation d'un résultat [CSHPF, 2002].

2.1.2.2. Altérations de la croissance

Les altérations de la croissance correspondent à une altération du poids ou de la taille des organes ou des mensurations de la progéniture. Cet effet peut être engendré par une exposition de la mère à n'importe quel moment du développement de l'enfant. Il peut être réversible ou non. Il peut être observé jusqu'à la maturation sexuelle de l'enfant.

> A noter que le retard d'ossification peut être un signe de retard de croissance embryofœtale, mais peut également être considéré comme le signe d'une embryotoxicité s'il n'est pas associé à une baisse du poids fœtal ou à une toxicité maternelle [CSHPF, 2002].

2.1.2.3. Déficiences fonctionnelles

Les déficiences fonctionnelles correspondent à une altération ou un retard des capacités de l'organisme, d'un système ou d'un organe (par exemple, altération comportementale ou neurocognitive) et sont liées à une exposition pendant la période critique de développement du système ou de l'organe, ou à une exposition post-natale (pendant la lactation).

2.2. Evaluation des effets néfastes

Les effets analysés dans les études toxicologiques et qui sont considérés pour la construction d'une VTR sont les effets « néfastes ». Ils correspondent à tout changement dans la morphologie, la physiologie, la croissance, le développement ou la durée de vie d'un organisme, résultant soit d'une détérioration de la capacité fonctionnelle ou de la capacité à compenser un stress additionnel, soit d'une augmentation de sensibilité.

Cette définition générique est très vaste et il est parfois difficile de distinguer des effets néfastes d'autres effets qui ne correspondraient pas à une manifestation directe de la toxicité. Ceci est particulièrement vrai dans le domaine de la toxicologie de la reproduction et du développement, où la distinction entre des effets considérés comme des malformations ou ceux classés uniquement comme variation est délicate et repose principalement sur le jugement du responsable de l'étude. De même, déterminer les effets dus à une toxicité directe et spécifique d'une substance de ceux dus à une toxicité induite chez la mère n'est pas toujours aisé.

Ces points devront donc être particulièrement discutés et argumentés. Le document intitulé *Draft guidance document on reproductive toxicity testing and assessment*, édité par l'organisation de coopération et de développement économique (1ère version, document provisoire) pourra y aider [OCDE, 2004].

Finalement, l'évaluation des effets reprotoxiques nécessite de connaître précisément les types d'effets susceptibles de se produire lors d'une exposition à une substance reprotoxique.

2.3. Choix des effets critiques reprotoxiques

On appelle effet critique reprotoxique le premier effet reprotoxique observé. Il est choisi pour l'élaboration d'une VTR. Le groupe de travail reste conscient qu'il pourrait y avoir un effet critique autre que reprotoxique apparaissant pour de plus faibles doses que celui retenu.

Cependant, construire une VTR pour un effet reprotoxique se justifie :

- d'une part car les effets sur le développement peuvent survenir pour des durées d'exposition particulières (fenêtre d'exposition courtes) ;
- d'autre part car une réponse spécifique aux effets reprotoxiques peut être sollicitée compte tenu de son importance en santé publique.

Il conviendra cependant, pour l'expert, lors du choix de l'effet critique reprotoxique, de s'assurer que la toxicité maternelle a bien été rapportée dans les études et que l'effet retenu est généralement observé en l'absence d'une toxicité maternelle.

Finalement, tous les effets reprotoxiques définis au chapitre 2.1. pourront être considérés comme effet critique reprotoxique.

3. EVALUATION DE LA QUALITE DES ETUDES : CHOIX POUR LA CONSTRUCTION D'UNE VTR REPROTOXIQUE

La qualité scientifique des études est un point important dans l'élaboration des VTR. Deux types d'études sont communément pris en compte : les études épidémiologiques réalisées chez l'homme et les études expérimentales menées chez l'animal. Le chapitre présente les différents critères de qualité à considérer pour l'évaluation de la validité et de la pertinence d'une ou de plusieurs études choisies pour la construction de la VTR.

3.1. Qualité des études chez l'homme

3.1.1. Apport de l'épidémiologie dans l'étude des relations dose – réponse

Lorsqu'elles sont disponibles et de bonne qualité, les études épidémiologiques présentent des intérêts majeurs pour l'étude des relations dose – réponse, telle que l'absence d'incertitude liée à la transposition entre espèces. Elles sont donc souvent appréciées et privilégiées, quand elles sont disponibles. A l'inverse, elles présentent également des limites particulières qu'il faut connaître et discuter si on souhaite les utiliser dans la construction d'une VTR reprotoxique.

Synthétiquement, les études épidémiologiques peuvent être classées en deux grands groupes : à visée étiologique et à visée descriptive. Parmi les études à visée étiologique (fournissant les arguments en faveur ou à l'encontre de l'hypothèse d'un rôle étiologique des facteurs de risque étudiés), on distingue les études de cohortes, les études cas-témoins et les études transversales. Les études à visée descriptive (fournissant des fréquences de maladies, des tendances temporelles ou géographiques) peuvent être réalisées à l'échelle individuelle ou populationnelle.

Les applications de ces différents types d'études sont résumées dans le tableau I. D'une manière générale, les cinq points-clés communs à toutes ces études, qui vont conditionner leur utilité dans le contexte de la construction de VTR, sont :

- la prise en compte des facteurs de confusion, d'interaction et des biais ;
- la mesure des expositions ;
- le choix de l'effet analysé ;
- la puissance ;
- le lien causal existant ou suspecté entre l'exposition et l'effet.

Tableau I : Application des différents types d'études en épidémiologie (adapté de « Environmental Health Risk Assessment, Guidelines for Assessing human Health Risks from Environmental Hazards, Department of Health and Ageing, Commonwealth of Australia – 2002)

	Ecologiques	Transversales	Cas-témoins	Cohortes
Investigation d'effets sanitaires rares	++++	–	+++++	–
Investigation d'expositions rares	++	–	–	+++++
Etude de plusieurs effets liés à une même exposition	+	++	–	+++++
Etude d'expositions multiples et de leurs déterminants	++	++	++++	+++
Etude de la relation temporelle exposition-effet	++	–	+	+++++
Mesure directe de l'incidence	–	–	+	+++++
Investigation d'effets sanitaires avec de longues périodes de latence	–	–	+++	+/– (+, si rétrospectif)

+ à +++++ : degré de pertinence, – : non pertinent

Les études écologiques, parce qu'elles ne reposent pas sur des mesures individuelles et ne considèrent pas les biais et les facteurs de confusion à l'échelle individuelle, ne permettent pas d'établir formellement une relation étiologique.
Seules les études analytiques (transversales, de cohorte et cas-témoin) peuvent contribuer à l'élaboration d'une VTR.

3.1.2. Critères de qualité à prendre en compte

3.1.2.1. Mesures des expositions

S'agissant *in fine* de retenir une dose critique, la plus grande attention devra être portée à la manière dont ont été mesurées les expositions (validité des outils de mesure et qualité de leur mise en œuvre), avec, notamment, des précisions sur :

- l'existence d'expositions multiples à des agents variés pouvant avoir chacun un rôle dans l'effet reprotoxique étudié ;
- l'application d'outils ou de techniques classiques de l'épidémiologie environnementale (budgets espace-temps moyens, relations exposition – biomarqueur) à des sous-groupes particuliers (femmes enceintes par exemple) ;
- la part des sources extérieures, professionnelles, intérieures et alimentaires dans l'exposition et leur articulation dans le temps (notion de fenêtre d'exposition critique pour certains effets reprotoxiques) ;
- l'éventuelle co-exposition des deux parents dans les études prenant en compte des effets sur la reproduction (toxicité maternelle, paternelle, effet synergique) ;

- l'importance des biais dans les études utilisant un questionnaire pour évaluer les expositions :
  - les biais de mémorisation différentiels entre les cas et les témoins liés à une mémorisation plus importante des évènements pendant la grossesse et à un rappel potentiellement favorisé par une issue non souhaitée ;
  - les biais d'information liés à une négation d'une conduite connue ou suspectée comme « à risque » comme la consommation d'alcool par exemple.

3.1.2.2. Choix de l'effet analysé

Comme mentionné en début de document, l'effet reprotoxique retenu dans une étude épidémiologique devra faire l'objet d'une définition consensuelle et correspondre à un effet néfaste et critique. En outre, une attention particulière sera apportée à la méthode de recueil de cet effet et les mêmes conditions, standardisées, devront avoir été appliquées aux cas, aux témoins, aux personnes exposées et non exposées. Dans ce contexte, les cas rapportés en dehors d'un suivi systématique et standardisé seront interprétés avec prudence, notamment en raison de la difficulté de préciser la population source dont ils sont issus.

3.1.2.3. Puissance

Comme pour toute étude épidémiologique, en dehors des précautions énoncées ci-dessus, les résultats négatifs ne seront interprétés qu'en relation avec la puissance de l'étude, c'est-à-dire sa capacité à détecter de faibles excès de risque.

3.1.2.4. Prise en compte des biais, des facteurs de confusion et d'interaction

Tous les biais habituels des études épidémiologiques sont possibles dans les études de reprotoxicité et devront être discutés. En dehors de ceux cités précédemment, un type de biais est plus susceptible de se rencontrer : les biais de sélection, liés à l'inclusion de cas et/ou témoins non représentatifs de la population générale ou non comparables. On citera par exemple les cohortes de femmes exposées professionnellement qui risquent de ne pas prendre en compte celles cessant leurs activités en raison de leur grossesse ou d'une crainte *a priori* des effets de l'exposition professionnelle. On citera également le taux de refus ou de perdus de vue qui peut être différent selon l'issue de la grossesse ou les expositions anténatales et donc lié à l'effet mesuré et/ou à l'exposition.

Les facteurs de confusion à prendre en compte spécifiquement dans une étude épidémiologique concernant les effets reprotoxiques, afin de dissocier leur influence de celle de l'exposition suspectée, peuvent être (liste non limitée) :

- l'âge maternel et paternel ;
- la catégorie socio-professionnelle des parents ;
- l'exercice professionnel et les expositions professionnelles paternels et maternels ;

- les antécédents médicaux de la fratrie ;
- les habitudes tabagiques avant et pendant la grossesse ;
- les antécédents médicaux, chirurgicaux et reproductifs ;
- le style de vie (consommation d'alcool avant et pendant la grossesse, consommation médicamenteuse consommation de produits stupéfiants pendant la grossesse) ;
- le stress et les apports nutritionnels pendant la grossesse ;
- les susceptibilités génétiques (si décrites) ;
- pour les effets sur le développement post-natal : le terme de la grossesse, l'histoire obstétricale, l'allaitement, le niveau d'éducation parentale, les infections intercurrentes, les expositions domestiques possibles et plus généralement l'environnement familial.

3.1.2.5. Existence ou suspicion d'un lien causal entre l'exposition et l'effet

D'une manière générale, une conclusion causale n'est pas accessible à partir d'une seule enquête épidémiologique d'observation du type de celles pouvant être utilisées pour construire une VTR et le jugement de causalité doit intervenir principalement en amont, lors de l'analyse des dangers. Le choix d'une étude épidémiologique pour construire une VTR devra naturellement être effectué en cohérence avec les connaissances issues de cette analyse des dangers. Les critères de causalité les plus reconnus (critères de B. Hill, 1965) sont :

- la force de l'association (par exemple risque relatif ou odds ratio élevé) ;
- l'existence d'une relation entre la dose d'exposition (prenant en compte la durée et l'intensité de l'exposition) et l'importance et/ou la fréquence de l'effet ;
- la temporalité (l'exposition précède l'effet) ;
- la spécificité de l'association entre l'exposition et l'effet ;
- la reproductibilité des résultats ;
- la plausibilité biologique (l'interprétation causale de l'association doit être cohérente avec les connaissances biologiques générales) ;
- la cohérence biologique (l'interprétation causale de l'association doit être cohérente avec les connaissances disponibles sur l'histoire naturelle et la biologie de la maladie) ;
- l'existence de données expérimentales lorsque cela est possible ;
- l'analogie avec des connaissances disponibles sur d'autres agents.

Afin de disposer de clés de décision pour le choix des études épidémiologiques de bonne qualité, le groupe de travail recommande de se reporter au document de référence publié par l'ADELF [ADELF, 2003]. Des informations sont également disponibles à l'adresse http://adelf.isped.u-bordeaux2.fr/. Ces clés de décisions sont qualitatives : elles concernent notamment le contenu du

protocole et de la publication. Elles ne peuvent en aucun cas remplacer l'expertise épidémiologique réalisée au cas par cas et reposant sur une évaluation par les pairs.

3.2. Qualité des études chez l'animal

Les études toxicologiques constituent généralement la base de l'élaboration des VTR. Elles doivent permettre d'identifier les effets résultant de l'exposition à la substance, les caractéristiques histologiques et d'établir des relations dose – effet.

Depuis 1981, des principes ont été proposés par l'OCDE pour que les études mises en place soient reproductibles, comparables et de meilleure qualité. Il s'agit des Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL) et des lignes directrices pour les essais des produits chimiques. Une des thématiques du programme concerne les effets sur la santé. Des protocoles expérimentaux standardisés sont ainsi proposés par l'OCDE afin d'évaluer correctement les différents effets concernés et les relations dose – effet quand elles existent. Ces protocoles sont établis en fonction de la durée d'exposition (14 jours par exemple pour la femelle gestante), de la voie d'exposition (ingestion, inhalation ou voie cutanée) et du type d'effet recherché. Ces lignes directrices élaborées et publiées par l'OCDE sont généralement reprises par l'Union européenne.

En comparant les études disponibles à ces lignes directrices, il est possible d'évaluer leur qualité et de comparer plusieurs études entre elles afin de sélectionner celles considérées comme de meilleure qualité scientifique ou tout au moins de donner plus de poids à celle jugée la plus fiable.

Dans le cadre de la construction d'une VTR, il est souhaitable que les études expérimentales retenues suivent les bonnes pratiques de laboratoire et les lignes directrices de l'OCDE ou en soient proches. Elles peuvent également suivre d'autres lignes directrices proposées par des organismes reconnus dans le domaine de la toxicologie (par exemple, le *National Toxicology Program* ou le *International Conference on Harmonisation*).

Toutefois, les études disponibles dans la littérature peuvent être anciennes et ne pas forcément respecter les lignes directrices de l'OCDE. Devant cet état de fait, il convient alors de considérer la qualité des études sur la base de critères tels que la pureté de la substance testée, l'espèce des animaux étudiés, les conditions du test ou la durée de l'exposition. C'est ce que propose l'évaluation selon Klimisch *et al*., issue d'une publication de 1997 [Klimisch *et al*. 1997], détaillée au chapitre 3.2.3.

3.2.1. Bonnes pratiques de laboratoire

Les principes relatifs aux BPL proposés en 1981 par l'OCDE forment un système de garantie de qualité portant sur le mode d'organisation des études non cliniques ayant trait à la santé et à l'environnement et sur les conditions dans lesquelles ces études sont planifiées, réalisées, contrôlées, enregistrées, archivées et diffusées. Elles ont pour objectif de promouvoir l'obtention

de données d'essai de qualité et comparables entre elles afin de permettre l'acceptation mutuelle de ces données par les Etats membres. Elles sont définies dans l'annexe 1 de la directive européenne 2004/10/CE concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives relatives à l'application des principes de bonnes pratiques de laboratoire et au contrôle de leur application pour les essais sur les substances chimiques. Elles définissent notamment les principes à respecter concernant l'organisation de l'essai, les appareils et matériaux utilisés les systèmes d'essai, les modes opératoires normalisés, le plan de l'étude et la rédaction du rapport d'évaluation

3.2.2. Lignes directrices de l'OCDE établies pour les effets reprotoxiques

Actuellement, cinq lignes directrices de l'OCDE permettent d'étudier les effets reprotoxiques d'une substance. L'ensemble de ces lignes directrices renseigne sur les effets néfastes pouvant être induits aux différentes étapes de la reproduction (effets sur la fertilité, effets tératogènes et effets péri et post-nataux).

Les cinq lignes directrices concernant les effets reprotoxiques sont les suivantes :

- **LD 414 :** « Etude de la toxicité pour le développement pré-natal » (anciennement étude de tératogenèse) ;
- **LD 415 :** « Etude de toxicité pour la reproduction sur une génération » ;
- **LD 416 :** « Etude de toxicité pour la reproduction sur deux générations » ;
- **LD 421 :** « Essai de dépistage de la toxicité pour la reproduction et le développement » ;
- **LD 422 :** « Etude combinée de toxicité à doses répétées et de dépistage de la toxicité pour la reproduction et le développement ».

Pour plus de renseignements l'évaluateur pourra également se reporter au rapport (Draft de 2004) de l'OCDE intitulé « *Guidance document on reproductive toxicity testing and assessment* » et prendre appui sur la monographie n°31 de l'ECETOC (2002) ainsi que sur les publications de Mitchell *et al.* (2004) et de Moore *et al.* (1995).

3.2.2.1. Effets sur la reproduction

Deux lignes directrices concernent les effets sur la reproduction. La ligne directrice n°415 « Etude de toxicité pour la reproduction sur une génération » adoptée le 26 mai 1983 et la ligne directrice n°416 « Etude de toxicité pour la reproduction sur deux générations » mise à jour le 22 janvier 2001.

Ligne directrice n°415 « Etude de toxicité pour la reproduction sur une génération »

Cette ligne directrice est destinée à fournir des informations générales concernant les effets d'une substance à tester sur le fonctionnement de la reproduction chez le mâle et la femelle, tels que la fonction génitale, le cycle œstral, le comportement lors de l'accouplement, la conception, la gestation, la parturition, la lactation et le sevrage. Cette ligne directrice n'est pas destinée à déterminer la cause et les effets spécifiques dans chaque cas et, pour l'étude des substances administrées par inhalation, des modifications seront nécessaires. L'étude en question peut également fournir des informations préliminaires sur les effets toxiques de la substance à tester sur le développement, effets tels que la morbidité néonatale, la mortalité, le comportement et la tératogenèse ; cette étude peut servir de guide pour des essais ultérieurs.

Ligne directrice n°416 « Etude de toxicité pour la reproduction sur deux générations »

Cette ligne directrice est destinée à livrer des informations générales concernant les effets d'une substance sur l'intégrité et le fonctionnement des appareils reproducteurs mâles et femelles, notamment la fonction gonadique, le cycle œstral, le comportement à l'égard de l'accouplement, la conception, la gestation, la parturition, la lactation, le sevrage ainsi que la croissance et le développement de la descendance. L'étude peut aussi montrer les effets de la substance sur la morbidité et la mortalité néonatales, fournir des données préliminaires sur la toxicité prénatale et post-natale pour le développement et orienter des essais ultérieurs. Cette ligne directrice étudie non seulement la croissance et le développement de la première génération (F1), mais évalue aussi l'intégrité et le fonctionnement des appareils reproducteurs mâles et femelles, ainsi que la croissance et le développement de la deuxième génération (F2). Il est possible d'obtenir des informations supplémentaires sur la toxicité pour le développement et les déficits fonctionnels, en complétant le présent protocole d'après les lignes directrices se rapportant à la toxicité pour le développement et/ou la neurotoxicité pour le développement.

3.2.2.2. Effets sur le développement

La ligne directrice traitant particulièrement des effets sur le développement est la ligne directrice n°414 « Etude de la toxicité pour le développement prénatal » (anciennement étude de tératogenèse). Cette ligne directrice a été mise à jour le 22 janvier 2001 et est destinée à livrer des informations générales concernant les effets de l'exposition prénatale d'une femelle gravide, sur elle-même et sur l'organisme en développement qu'elle porte en elle. Ces informations peuvent être déduites, par exemple, de l'évaluation des effets sur la mère, des décès, des anomalies structurelles ou de l'altération de la croissance du fœtus. Les déficits fonctionnels, qui représentent cependant un aspect important du développement, ne sont pas étudiés dans cette ligne directrice. Leur recherche peut s'effectuer dans le cadre d'une autre étude ou en

complément à celle-ci, à l'aide de la ligne directrice se rapportant à la neurotoxicité pour le développement (ligne directrice n°426).

3.2.2.3. *Effets sur la reproduction et le développement*

Deux lignes directrices étudient à la fois les effets sur la reproduction et sur le développement. La ligne n°421 « Essai de dépistage de la toxicité pour la reproduction et le développement » adoptée le 27 juin 1995 et la ligne n°422 « Etude combinée de toxicité à doses répétées et de dépistage de la toxicité pour la reproduction et le développement » adoptée le 22 mars 1996.

Ligne directrice n°421 « Essai de dépistage de la toxicité pour la reproduction et le développement »

Cette ligne directrice peut être appliquée en vue d'obtenir une première série d'informations concernant les effets possibles d'une substance sur la reproduction et/ou sur le développement, soit au stade initial d'une évaluation toxicologique soit dans l'évaluation d'une substance particulièrement préoccupante. Elle peut avoir son utilité dans un ensemble d'essais de tri initial de produits chimiques existants pour lesquels les informations toxicologiques sont peu nombreuses ou absentes et peut donner des indications sur l'éventail de doses à utiliser dans des études plus complètes des effets sur la reproduction ou le développement.

Cet essai ne permet pas d'obtenir des informations complètes sur tous les aspects de la reproduction et du développement. En particulier, il n'offre qu'un moyen partiel de détecter des manifestations post-natales liées à des expositions prénatales ou des effets éventuellement liés à une exposition post-natale. Etant donné, entre autres raisons, le nombre relativement faibles d'animaux dans les groupes, la sélection des effets observés retenue et la brièveté de l'étude, cette méthode ne peut fournir toutes les preuves nécessaires à l'étayage d'une conclusion définitive sur les effets reprotoxiques.

Ligne directrice n°422 « Etude combinée de toxicité à doses répétées et de dépistage de la toxicité pour la reproduction et le développement »

Cette étude de toxicité à doses répétées comprend un test de dépistage de la toxicité pour la reproduction et le développement et peut être utilisée pour obtenir des informations initiales sur les effets possibles affectant les capacités reproductrices du mâle et de la femelle telles que la fonction gonadique, le comportement lors de l'accouplement, la conception, le développement de l'embryon et la parturition, soit à un stade précoce de l'évaluation des propriétés toxicologiques des substances chimiques, soit sur des substances chimiques préoccupantes. Cet essai ne fournit pas une information exhaustive sur tous les aspects de la reproduction et du développement. En particulier, il n'offre que des moyens limités pour déceler des manifestations post-natales d'une exposition prénatale ou des effets imputables à une exposition post-natale. En raison, entre autres, du choix des effets observés retenu et de la brièveté de l'étude, cette

méthode ne fournit pas toute les preuves nécessaires à l'étayage d'une conclusion définitive sur les effets reprotoxiques.

Les lignes directrices n°421 et 422 permettent l'obtention d'informations sommaires sur les effets d'une substance sur les fonctions gonadiques, la conception ou encore le développement du nouveau-né, mais ne peuvent permettre une conclusion définitive concernant les effets reprotoxiques. De plus, compte tenu des protocoles utilisés (nombre d'animaux faible, brièveté de l'étude et observations courtes), **les résultats de ces deux lignes directrices n'apparaissent pas toujours suffisantes pour la construction d'une VTR**. Cependant, les études LD 422 donnent parfois un niveau d'information raisonnable sur l'accouplement, la gestation et la parturition. Les organes de la reproduction sont également étudiés au niveau histopathologique. Il existe par ailleurs de plus en plus d'études de ce type complétées par des études d'expositions en période de pré-accouplement ou une analyse de la progéniture. Il peut donc être envisagé de retenir ce type d'étude, au cas par cas, en fonction des données.

3.2.2.4. Autres effets

Etude de la toxicité sur le développement neurologique

La ligne directrice n°426 permet d'évaluer les effets sur le système nerveux de la progéniture après une exposition de la mère pendant la gestation, ou une exposition pendant la lactation. Le but est d'observer les changements comportementaux liés à des effets sur le système nerveux périphérique et central (par exemple, altération de la fonction motrice, apprentissage, mémoire, fonction sensorielle, *etc.*).

3.2.3. Aide à l'évaluation de la qualité des études ne suivant pas les protocoles standardisés

Lorsque les études toxicologiques ne suivent pas les protocoles standardisés de l'OCDE, ce qui peut être fréquent, il existe des critères permettant d'évaluer la qualité scientifique d'une étude expérimentale. De nombreuses publications existent sur le sujet [Squire 1984]. Toutefois, seule la proposition de Klimisch *et al.* (1997) sera exposée ici car elle est reconnue au niveau européen et international et est la plus utilisée en pratique dans le domaine de l'évaluation réglementaire des substances chimiques (TGD, documents de l'OCDE, US EPA, procédure REACH).

Cette approche systématique est fondée sur une harmonisation des procédés d'évaluation de qualité des études toxicologiques utilisés par différentes institutions (par exemple : ECB, IPCS, OCDE, BUA), permettant ainsi d'uniformiser les méthodes d'évaluation des données et d'homogénéiser la présentation des résultats. Elle a pour vocation d'identifier l'étude de meilleure qualité et non d'exclure *a priori* les données de faible validité. Dans cette approche, lorsque

l'étude ne répond pas aux protocoles standardisés de l'OCDE, sa fiabilité est déterminée selon la présence des informations suivantes :

- type d'animaux testés (espèces, souches, sexe, âge) ;
- composition, pureté et origine de la substance ;
- but des investigations (observations histopathologiques, cliniques, *etc.*) ;
- précision de la description des lésions observées ;
- présence d'un groupe contrôle ou contrôle historique ;
- description des conditions du test ;
- description des voies et doses administrées ;
- identification d'une relation dose réponse si possible ;
- description et pertinence des méthodes statistiques utilisées ;
- informations sur la période d'investigation pendant la vie de l'animal ;
- informations sur les conditions de vie des animaux (notamment alimentation).

Klimisch *et al.* (1997) ont alors établi un système de cotation des études expérimentales en prenant en compte la fiabilité des études (méthodes standardisées, B.P.L. (Bonnes Pratiques de Laboratoire)), le détail de description de la publication ainsi que la pertinence et l'utilité des données dans le cadre de l'évaluation du risque. Cette cotation est comprise entre 1 et 4. Le détail de ces cotations est rappelé ci-après et le tableau II présente les critères permettant cette cotation :

- Cotation 1 : Valide sans restriction ;
- Cotation 2 : Valide avec restrictions ;
- Cotation 3 : Non valide ;
- Cotation 4 : Non évaluable.

Les études les plus pertinentes décrivent avec précision la nature de l'effet toxique, le nombre et le pourcentage d'animaux concernés par les effets observés ainsi que les conditions de l'exposition (durée – concentration).

Tableau II : Critères pour la cotation de Klimisch (1997)

Cotation	Catégorie de validité
1	**Valide sans restriction**
- 1a	- Etude BPL respectant les tests standardisés (OCDE, EC, EPA, FDA, *etc.*)
- 1b	- Comparable à des tests standardisés (« *guidelines* »)
- 1c	- Protocole en accord avec méthode standardisée nationale (AFNOR, DIN, *etc.*)
- 1d	- Protocole en accord avec d'autres méthodes standardisées scientifiquement acceptées, et suffisamment détaillé.
2	**Valide avec restrictions**
- 2a	- Etude standardisée sans documentation détaillée
- 2b	- Etude standardisée avec restrictions acceptables
- 2c	- Comparable à une étude standardisée avec restrictions acceptables
- 2d	- Protocole en accord avec les méthodes standardisées nationales, avec restrictions acceptables
- 2e	- Etude bien documentée et en accord avec les principes scientifiques, acceptable pour l'évaluation
- 2f	- Méthode de calcul acceptée
- 2g	- Données provenant d'ouvrages de références et de collecte de données
3	**Non valide**
- 3a	- Document insuffisant pour l'évaluation
- 3b	- Déficiences méthodologiques significatives
- 3c	- Protocole inconcevable
4	**Non évaluable**
- 4a	- Résumé
- 4b	- Littérature secondaire
- 4c	- Référence originale non disponible
- 4d	- Référence originale dans un autre langage que le langage international
- 4e	- Documentation insuffisante pour l'évaluation

Si les études disponibles ne suivent pas les lignes directrices de l'OCDE, il est conseillé aux évaluateurs de vérifier que ces études répondent aux différents critères de fiabilité déterminés par Klimisch *et al.* (1997), et de réaliser une cotation des études selon la méthode décrite dans leur publication. Ces critères sont qualitatifs et non quantitatifs. Par exemple, le nombre minimum d'animaux à tester ou le degré de pureté minimum de la substance à étudier, ne sont pas précisés et relèvent d'un jugement d'experts. De ce fait, l'évaluateur devra également s'assurer qu'il existe bien une relation dose – réponse (allure, exploitation, nature) dans l'étude. **Le groupe de travail conseille de prendre en compte uniquement les études expérimentales cotées 1 et 2.**

Pour une aide à l'analyse des études toxicologiques, l'expert peut se reporter à un document australien intitulé « *Environmental health risk assessment, Guidelines for assessing human health risks from environmental hazards* » [Commonwealth of Australia, 2002].

3.3. Effectuer le choix de l'étude

La dernière étape sera de choisir la meilleure étude en fonction des effets critiques retenus. L'objectif n'est pas de classer l'ensemble des études selon un système de notation chiffrée mais plutôt de présenter de manière structurée et systématique les critères permettant d'arriver à un choix final fondé sur un jugement scientifique. En outre, si les informations complémentaires ne sont pas utilisées directement pour construire une VTR, elles servent à argumenter les choix qui sont faits.

Pour faciliter ce choix et le rendre transparent, il est conseillé d'utiliser des grilles de lecture pour les différents types d'études, comme précisé au chapitre 5.2.

Au final, le choix de l'étude support se fondera sur le raisonnement suivant :

- **privilégier les études épidémiologiques si elles sont de qualité suffisante et si les expositions sont suffisamment bien caractérisées ;**
- **utiliser en deuxième intention les études expérimentales qui suivent les protocoles standardisés de l'OCDE ou de tout autre organisme national ou supranational compétent dans le domaine ;**
- **utiliser les études expérimentales notées 1 ou 2 selon Klimisch *et al.* (1997) si aucune étude citée ci-dessus n'est disponible.**

4. DONNEES COMPLEMENTAIRES

4.1. Etudes de toxicocinétique

Les études de toxicocinétique permettent d'apporter des informations relatives à toutes les étapes du devenir des substances (profil ADME[10]) après administration/exposition par différentes voies. Les données d'absorption digestive, de fraction biodisponible et de cinétique d'élimination sont un préalable nécessaire à la réalisation et l'interprétation des études de toxicité proprement dites. Cela sous-entend d'avoir à disposition des études par voie orale et voie veineuse dans la mesure du possible.

Lorsque ces études sont réalisées sur différentes espèces, elles peuvent mettre en évidence des différences de modalité de biotransformation et d'élimination. Bien que le comportement toxicocinétique d'une substance soit différent chez l'homme et l'animal (de laboratoire), le plus souvent seules sont disponibles des données obtenues chez l'animal. En revanche et généralement, la cible toxicologique est identique chez l'homme et chez l'animal. Ainsi, les études de toxicocinétique permettent d'améliorer l'étape de transposition des données à l'homme par l'établissement d'une relation entre la dose/concentration plasmatique au niveau de la cible et l'effet toxique observé. Il est alors possible de déterminer un modèle reliant la concentration plasmatique en fonction du temps, et, si différentes doses ont été testées, les variations des concentrations en fonction des doses.

Des études de biotransformation *in vivo* ainsi que des études de métabolisme *in vitro* (par exemple sur hépatocytes humains avec ou sans inducteurs des enzymes de métabolisation) permettent d'aider à la transposition des données.

4.1.1. <u>Etudes chez l'animal</u>

Les études toxicocinétiques chez l'animal sont réalisées soit en tant qu'études singulières, soit sur des lots d'animaux appelés « groupes satellites » lors des études de toxicité à doses répétées. La ligne directrice OCDE n°417 précise ces études de toxicocinétique : elles peuvent être conduites chez une ou plusieurs espèces animales ; cependant, le choix doit être cohérent avec l'espèce animale utilisée dans les autres études toxicologiques. Pour ces raisons, les données de toxicocinétique sont majoritairement issues d'études conduites chez le rat. Il est conseillé d'utiliser des animaux des deux sexes, afin d'identifier une influence sexe-dépendante sur les paramètres toxicocinétiques. Le nombre moyen par groupe est en général de 4 animaux par sexe et par groupe de dose testée. Il ne doit jamais être inférieur à 2 animaux par groupe. Le type d'étude requis peut être soit à dose unique soit à doses répétées. Dans le cas d'une étude à

---

[10] Profil des phases toxicocinétiques d'Absorption, Distribution, Métabolisation, Elimination

administration unique, deux niveaux de doses au minimum doivent être testés (une faible dose pour laquelle aucun effet toxique n'est observé et une dose plus élevée pour laquelle des effets toxiques peuvent être observés ou des modifications des paramètres toxicocinétiques supposés). Dans le cas d'une étude à doses répétées, un seul niveau de dose est généralement suffisant. La durée de l'étude correspond en général à 3 à 5 demi-vies de la substance, temps nécessaire pour identifier le profil ADME dans sa globalité. Le choix de la voie d'exposition doit être cohérent avec la voie utilisée dans les études toxicologiques et, au mieux, avec la voie d'exposition chez l'homme. La voie orale permet par ailleurs d'identifier les paramètres toxicocinétiques systémiques et est recommandée par la Directive 91/414/CEE modifiée [EC, 1991]. Les données de toxicocinétique sur la femelle gestante sont préconisées si cela s'avère justifié (Ligne OCDE 417).

4.1.2. Etudes chez l'homme

Les données de toxicocinétique humaine sont issues d'études menées chez des volontaires sains ou chez des travailleurs. Les dosages des substances et/ou des métabolites dans les urines, le plasma ou les fèces peuvent être utilisés pour identifier les voies métaboliques majeures chez l'homme. Ce type d'étude a l'avantage de fournir des résultats directement observés chez l'homme qui permettent, comparés aux données animales, de confirmer ou non les hypothèses de transposition inter-espèces et de renseigner des modèles mathématiques (voir paragraphe suivant).

4.1.3. Modèles mathématiques

Récemment, des modèles mécanistiques ont été développés pour quantifier le comportement toxicocinétique d'une substance dans un organisme complet : il existe des modèles pharmacocinétiques et des modèles toxicocinétiques physiologiques appelés PBPK (*Physiologically-Based PharmacoKinetic*). Ces modèles intègrent des paramètres physiologiques. Le corps est modélisé comme un ensemble de compartiments interconnectés entre eux, représentant les différents organes et les échanges sanguins. Le transport des substances peut être modélisé par un système d'équations différentielles liant principalement la quantité ou la concentration de substance dans les différents organes, le flux sanguin, le volume des organes, les coefficients de partage ou encore le taux de ventilation. La représentation des organes dans un tel modèle n'est pas nécessairement exhaustive, elle dépend de la substance étudiée et des organes cibles ou jouant un rôle dans le métabolisme ou le stockage de la substance. Ce type de modèle présente les avantages suivants :

- répondre à des problèmes d'extrapolation (inter-doses, inter-espèces, intra-espèce) et prendre en compte les spécificités liées à des organes précis ;

- simuler l'évolution temporelle de la concentration plasmatique ;
- quantifier les concentrations internes à l'organe cible.

Finalement, l'analyse et la comparaison des études de toxicocinétique conduites sur plusieurs espèces permettent d'identifier des particularités d'espèce, qui sont prises en compte dans le choix des facteurs d'incertitude inter-espèces (voir chapitre 6). L'étude comparée de la relation entre l'exposition et la dose atteinte à l'organe cible est importante pour la transposition inter-espèces.

4.2. Autres données

4.2.1. Etudes à doses répétées

Les études de toxicité à doses répétées sur 90 jours, orales, respiratoires ou cutanées, ainsi que les études de cancérogenèse sur 2 ans peuvent renseigner sur la reprotoxicité d'une substance dans le cas où les observations histopathologiques ont été faites sur les organes reproducteurs. L'évaluateur pourra se reporter aux lignes directrices n°407, 408, 409, 411, 413 et 453. Par ailleurs, il est de plus en plus fréquent de trouver ce type d'études complétées d'un spermogramme ou autre mesure de paramètres sexuels. **Toutefois, ces études seules ne suffisent pas à la construction d'une VTR. Il est préférable de les utiliser en complément d'études spécifiques.**

4.2.2. Etudes *in vitro*

Les études *in vitro* permettant de mettre en évidence les mécanismes d'action des substances étudiées peuvent être utilisées pour mieux comprendre la survenue des effets néfastes. Ces études ne mettent que rarement en évidence de relation dose – effet ou dose – réponse et ne peuvent donc être utilisées pour la construction de VTR. Toutefois, leur analyse reste très utile à la compréhension de la toxicité de la substance.

4.2.3. Cas particulier des perturbateurs endocriniens

Différents types de tests *in vivo* ou *in vitro* sont utilisés pour mesurer l'activité des perturbateurs endocriniens. La plupart sont détaillés dans des revues bibliographiques d'intérêt [Shelby *et al.* 1996 ; Odum *et al.* 1997]. L'OCDE a également publié en 2003 une monographie faisant le point sur les tests de réponse utérotrophique (mode d'action, bases biologiques, évaluation) [OCDE, 2003].

4.2.4. Propriétés physico-chimiques

Les propriétés physico-chimiques d'une substance peuvent prédire son comportement dans l'organisme ou influencer les paramètres toxicocinétiques d'absorption par exemple. Ainsi, l'identification précise de ces propriétés doit être prise en compte lors de l'interprétation des études disponibles. L'évaluation du degré de pureté de la substance testée participe également à l'interprétation des résultats observés.

4.2.5. Relations structure – activité

Les données de QSAR (quantitative structure-activity-relationships) prédisent la toxicité d'une substance *in vitro* en corrélant statistiquement sa structure chimique au pouvoir reprotoxique de substances analogues connues (classe chimique, structure d'alerte, *etc*). Cependant, elles ne prennent pas en compte la possibilité de formation de métabolites toxiques de structure chimique différente de la substance mère.

5. ORGANISATION DES CONNAISSANCES : LE PROFIL TOXICOLOGIQUE

L'élaboration d'un profil toxicologique est un processus d'évaluation utilisant les données scientifiques actuelles disponibles dont l'objectif ultime est ici la construction d'une VTR. Cette évaluation permet de porter un jugement toxicologique rigoureux dans le but de définir les effets toxiques liés à différents types d'expositions à la substance (aiguë, chronique, voie orale, *etc.*). Dans le cadre de ces travaux, le profil toxicologique se concentrera principalement sur les effets reprotoxiques (effets sur la reproduction chez l'homme et chez la femme, effets sur le développement embryofœtal).

Ainsi, à partir des informations disponibles, l'évaluateur doit déterminer si les données humaines et/ou animales présentées peuvent raisonnablement être utilisées pour prédire des effets sur la reproduction ou le développement dans des conditions d'exposition particulières au sein de la population humaine. Les données exploitées sont celles issues des études expérimentales chez l'animal, des cas d'intoxications humaines, des études contrôlées chez l'homme (si elles existent) et des études épidémiologiques humaines réalisées au sein de diverses populations (en milieu professionnel, dans des groupes de populations sensibles, dans la population générale). La conclusion doit porter sur l'identification du (ou des) effet(s) critique(s) pertinent(s), des doses repères existantes (LOAEL, NOAEL, BMD…) ainsi que de l'étude la plus robuste en terme de qualité, pour chaque type d'exposition pertinente. Le profil toxicologique ainsi rédigé doit permettre d'étudier, si cela s'avère nécessaire, la cohérence et la pertinence d'une transposition de l'animal à l'homme. Pour cela, il est essentiel de réunir les informations concernant : i) les propriétés physico-chimiques de la substance et la plausibilité de l'exposition humaine ; ii) les effets chez l'animal et chez l'homme ; iii) l'éventuelle continuité d'effets entre des expositions aiguë, intermédiaire et chronique ; iv) la toxicocinétique des différentes espèces ; v) la toxicodynamie des différentes espèces, en fonction de l'organe ou du système cible. Ce chapitre est rédigé à la manière d'un cahier des charges, où l'ensemble des informations à fournir doit être présenté.

5.1. Informations générales

Les informations générales doivent permettre l'identification de la substance. Doivent figurer son nom, son numéro d'enregistrement au *Chemical Abstract Service* (CAS), sa formule et ses propriétés physico-chimiques, ses principaux métabolites chez l'homme et chez l'animal, sa toxicité générale (différents types d'effets pour différents schémas d'exposition) et les voies d'exposition plausibles chez l'homme. La mise en forme de tableaux pour les principales caractéristiques permet une bonne visibilité et une identification rapide.

L'identification et les propriétés physico-chimiques de la substance seront issues principalement d'ouvrages et de bases de référence, tels que l'Index Merck, les bases HSDB et Chemfinder[11]. Pour les autres données, les informations peuvent provenir des documents publiés par les organismes nationaux ou internationaux reconnus : l'ATSDR (« *toxicological profiles* »), l'IPCS (« *environmental health criteria* »), Santé Canada (« *rapports d'évaluation des substances d'intérêt prioritaire* »), l'US EPA (IRIS « *toxicological review* »), l'ECB (« *risk assessment reports* »), l'OCDE (UNEP « *chemicals screening information dataset* »), l'IARC (« *monographs* »), le NCEA (« *risk assessments* »), *etc*[12].

Ces différents types d'informations pourront être regroupés sous forme de tableaux :

- Identification de la substance

Numéro CAS, ENEICS, *etc.*	
Nom	
Synonymes	
Formule brute	
Formule développée	
Appartenance à une liste reprotoxique	

- Propriétés physico-chimiques

Forme physique	*Ne pas oublier d'indiquer références et unités*
Poids moléculaire	*Si les données ne sont pas disponibles dans les profils toxicologiques analysés, indiquer « NR » pour « non renseigné »*
Point d'ébullition	
Point de fusion	
Pression de vapeur	
Densité	
Facteurs de conversion	
Solubilité	
Log Kow[13], Koc[14]	
BCF, BAF[15]	
Produits de dégradation environnementale	

---

11 Index MERCK : The Merck Index, an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. Thirteenth edition. Published by Merck Research Laboratories Division of Merck & Co., Inc. Whitehouse Station, NJ. 2001; HSDB et ChemFinder : http://toxnet.nlm.nih.gov/.

12 ATSDR : http://www.atsdr.cdc.gov/ ; IPCS/ OCDE/ IARC : http://www.inchem.org/ lien EHC, SIDS et IARC ; Santé Canada : http://www.hc-sc.gc.ca/ ; ECB : http://ecb.jrc.it/ ; NCEA : http://cfpub.epa.gov/ncea/

13 LogKow : logarithme du coefficient de partage octanol-eau. Il correspond au ratio entre la concentration de la substance dans l'octanol et celle dans l'eau à l'équilibre. Il est corrélé à la solubilité dans l'eau et reflète indirectement les potentiels de bioconcentration et de bioaccumulation d'une substance.

14 Koc : Coefficient d'adsorption sur la matière organique. C'est le ratio entre la quantité de substance adsorbée par le sol par unité de poids de carbone organique et la concentration de la substance en solution, à l'équilibre. Il reflète donc la mobilité de la substance dans les sols.

15 *Bioconcentration factor* : facteur de bioconcentration, c'est le rapport entre la concentration de la substance dans un organisme aquatique et sa concentration dans l'eau. Il exprime donc l'accumulation de la substance dans un organisme aquatique, c'est-à-dire la capacité qu'a un organisme (en particulier aquatique) d'extraire et de concentrer les substances de l'environnement qui l'entoure (eau) ; *Bioaccumulation factor* : Facteur de bioaccumulation. La bioaccumulation est la capacité qu'a un organisme (généralement aquatique) d'extraire et concentrer les substances, à la fois directement à partir de l'environnement qui l'entoure (bioconcentration), mais aussi indirectement à partir de la nourriture.

- Plausibilité d'exposition humaine

Types d'utilisation	
Restrictions d'usages	
Tonnages (Europe, France)	
Médias de rejets dans l'environnement	
Vecteurs potentiels d'exposition humaine	
Groupes de populations concernées	

- Toxicocinétique

	Données chez l'animal	**Données chez l'homme**
Substance mère		
Voies de métabolisation possibles		
Métabolites principaux		
Absorption (% par voie)		
Distribution		
Stockage, accumulation (% et cible)		
Transferts barrière hémto-encéphalique, placenta, lait maternel		
Elimination (demi-vies)		

- Toxicité générale

Les données animales pertinentes sont généralement issues des études de toxicité aiguë et répétée sur 28 ou 90 jours. Les informations issues de cas d'intoxications ou de cas cliniques ainsi que d'études épidémiologiques sont également à prendre en compte. Les données de toxicité chez les animaux et chez l'homme peuvent permettre de mettre en évidence les différences d'espèces concernant la toxicité ou le type d'effet, et renseigner sur les relations dose – effet mises en évidence. Enfin, les informations sur la cancérogénicité (classification), la mutagénicité (screening et classification) et les phénomènes de sensibilisation sont également à prendre en compte.

Ces différents types d'informations pourront être regroupés sous forme de tableaux :

- Données chez l'homme

Données d'intoxications aiguës, subchroniques, chroniques	
Etudes contrôlées	
Etudes épidémiologiques	
Autres	

- Données chez l'animal

Toxicité aiguë	
Toxicité à doses répétées	
Génotoxicité	
Cancérogénicité	
Sensibilisation, irritation, *etc.*	

- VTR existantes

Pour plus de clarté, les VTR existantes pour la substance étudiée peuvent être regroupées dans un tableau récapitulatif (tableau III).

Toutes les valeurs présentées sont fournies selon le système international des unités et rédigées en écriture scientifique ; par exemple, une dose orale est présentée en $mg.kg^{-1}.j^{-1}$.

Tableau III : Exemple de tableau récapitulatif des VTR proposées dans les bases de données

Organisme (année)	VTR	Effet pris en compte dans la construction de la VTR	Voie d'exposition pour laquelle la VTR s'applique	Durée d'exposition pour laquelle la VTR est valable	Etude toxicologique utilisée	Espèces testée, voie et durée d'exposition du protocole	Dose critique	UF
Préciser le nom de l'organisme qui produit la VTR et la date de production	**Valeur Numérique de la VTR (préciser les unités)**		Orale, respiratoire ou cutanée	Aiguë, intermédiaire ou chronique	Référence bibliographique et année	Espèce Voie (si orale, préciser : gavage, *ad. lib. …*) Durée	Valeur numérique et type (NOAEL, LOAEL, BMD…)	Nature et valeur numérique des UF appliqués

5.2. Toxicité sur la reproduction et le développement

Ce chapitre doit permettre d'identifier les effets reprotoxiques engendrés par des expositions à la substance étudiée et de renseigner sur la qualité des études toxicologiques et épidémiologiques présentées. Ici, il est nécessaire de détailler les études puisqu'un choix devra être fait pour la construction de la VTR. Les informations doivent être séparées selon que les effets sont étudiés chez l'homme ou l'animal, puis en fonction de l'organe ou du système cible. Enfin, un chapitre sur la toxicodynamie permet d'identifier les éventuels mécanismes d'actions proposés, en fonction de l'effet.

Les informations sont issues de plusieurs sources de données : des évaluations détaillées spécifiques, des évaluations synthétiques et des données primaires. Pour plus d'informations sur les moyens de recherche à utiliser, il est conseillé de se reporter à l'annexe 1. La présentation pourra se faire sous la forme de grilles de lecture pour chaque étude considérée comme suffisamment pertinente, comme précisé au chapitre 3. Une proposition de grilles[16] est donnée à titre indicatif, pour les études chez l'homme et chez l'animal, afin de guider l'évaluateur sur la nature des informations à recueillir pour une bonne analyse de la qualité de l'étude et effectuer un choix éclairé.

Enfin, un tableau récapitulatif permettra d'identifier sur une page l'ensemble des couples NOAEL / LOAEL trouvés dans la littérature et issus d'études que l'on aura préalablement identifiées comme de bonne qualité.

[16] L'évaluateur pourra se référer à la méthode de construction pour les VTR cancérogènes, Afsset (en cours de publication) pour avoir des grilles de lecture plus complètes quant à la qualité des données.

Ces différentes informations pourront être rassemblées sous forme de tableaux :

- Données humaines
  - Effets sur le développement

Référence simplifiée de l'étude humaine	Nom, année
Type d'étude	Cas témoin, *etc.*
Effet étudié	
Lieu	Industrie, habitats, *etc.* / pays
Nombre et type de personnes exposées	Effectifs, distribution par âge, sexe, *etc.*
Voie d'exposition	
Durée d'exposition	
Niveaux d'exposition et moyennes	
Type et durée de mesurages	
Critères de choix et effectif du groupe non exposé	
Force de l'association observée	
Relation dose réponse	
Qualité de l'étude	puissance, prise en compte de facteurs de confusion, qualité de l'analyse
Convergence avec autres études sur même effet et argumentation causale	

  - Effets sur la fertilité

Référence simplifiée de l'étude humaine	Nom, année
Type d'étude	Cas témoin, *etc.*
Effet étudié	
Lieu	Industrie, habitats, *etc.* / pays
Nombre et type de personnes exposées	Effectifs, distribution par âge, sexe, *etc.*
Voie d'exposition	
Durée d'exposition	
Niveaux d'exposition et moyennes	
Type et durée de mesurages	
Critères de choix et effectif du groupe non exposé	
Force de l'association observée	
Relation dose réponse	
Qualité de l'étude	puissance, prise en compte de facteurs de confusion, qualité de l'analyse
Convergence avec autres études sur même effet et argumentation causale	

- Données animales

  - Effets sur le développement

Référence simplifiée de l'étude animale	Nom, année
Type d'étude	Une génération, plusieurs, toxicité chronique, *etc.*
Espèce / souche étudiée	
Sexe et nombre d'animaux par lot (groupes de doses)	
Voie d'exposition	
Temps d'exposition quotidien	
Fréquence et durée du traitement	
Pré-exposition éventuelle	Présence, durée et voie
Doses ou concentrations d'expositions	
Groupe témoin	Présence et nombre d'animaux
Tests statistiques utilisés	
Le(s) effet(s) critique(s) observé(s)	
Les autres effets mis en évidence	
Présence d'une toxicité maternelle / doses	
Le couple NOAEL / LOAEL pour l'effet critique (reprotoxique si c'est le cas)	Indiquer l'incidence ou le niveau de réponse correspondant au LOAEL
Qualité de l'étude	BPL/OCDE, autres lignes directrices ou Klimisch

  - Effets sur la fertilité

Référence simplifiée de l'étude animale	Nom, année
Type d'étude	Une génération, plusieurs, toxicité chronique, *etc.*
Espèce / souche étudiée	
Sexe et nombre d'animaux par lot (groupes de doses)	
Voie d'exposition	
Temps d'exposition quotidien	
Fréquence et durée du traitement	
Pré-exposition éventuelle	Présence, durée et voie
Doses ou concentrations d'expositions	
Groupe témoin	Présence et nombre d'animaux
Tests statistiques utilisés	
Le(s) effet(s) critique(s) observé(s)	
Les autres effets mis en évidence	
Présence d'une toxicité maternelle/ doses	
Le couple NOAEL / LOAEL pour l'effet critique (reprotoxique si c'est le cas)	Indiquer l'incidence ou le niveau de réponse correspondant au LOAEL
Qualité de l'étude	BPL/OCDE, autres lignes directrices ou Klimisch

Tableau IIIb : Exemple de tableau récapitulatif des études épidémiologiques (pour les études retenues comme étant de qualité suffisante)

Auteur, date, référence	Lieu	Type d'étude	exposition	Origine et qualité des données sanitaires	Résultats	Interprétation & commentaires

Préciser les significativités statistiques : oui/ non/ p ?.

Tableau IIIc : Exemple de tableau récapitulatif des couples NOAEL / LOAEL proposés dans la littérature analysée (pour les études retenues comme étant de bonne qualité)

Espèces animales testées	Type d'étude (cf lignes directrices)	Voie d'exposition	durée	NOAEL	LOAEL	Effet néfaste observé	Source
lapin	*ex* : tératogénicité	Orale, gavage	*ex :* J18-21	X $mg.kg^{-1}.j^{-1}$	Y $mg.kg^{-1}.j^{-1}$		

NP : non présenté dans la source bibliographique.

ND : non déterminé.

5.3. Mécanismes d'action proposés

Il est important dans ce chapitre de préciser si les études exploitées ont été réalisées chez l'animal ou chez l'homme, ou si les résultats sont issus d'études *in vitro* ou *in vivo.* L'objectif est de mettre en exergue les hypothèses proposées sur les mécanismes d'action toxique des substances étudiées. Chaque information sur les mécanismes d'action a une importance majeure dans la compréhension de la survenue des effets néfastes et pour la transposition des données de l'animal à l'homme lors de la construction de la VTR.

5.4. Analyse de la cohérence des données animales et humaines

Ce chapitre doit permettre de déterminer la pertinence de l'utilisation d'un type de données, animales ou humaines, pour la construction de la VTR et de conclure sur les effets que l'on pourra retenir pour la construction de la VTR.

Dans la situation la plus favorable, les données observées chez l'homme peuvent suffire à expliciter un mécanisme d'action reprotoxique. Dans ce cas, la discussion sur la transposition de l'animal à l'homme n'a pas d'objet. En pratique, les données les plus courantes proviennent d'études conduites chez l'animal. La discussion sur la pertinence de transposer le mécanisme d'action de l'animal à l'homme prend ici tout son sens, afin notamment de considérer comme valides pour l'homme tout ou partie des données observées chez l'animal. La méthode présentée ci-après propose une liste de thèmes généraux à aborder pour guider l'évaluateur dans l'examen de la transposition du mécanisme d'action explicité chez l'animal :

- la toxicocinétique : la biodisponibilité est-elle identique chez l'animal et l'homme ? Le métabolisme est-il le même qualitativement ou quantitativement ?
- les effets : sont-ils identiques chez l'animal et l'homme ? Dans le cas d'une absence de données chez l'homme, est-il plausible que les effets observés chez l'animal puissent se produire chez l'homme (spécificité d'espèces, différences entre les espèces de laboratoire si plusieurs testées, *etc.*) ?
- les mécanismes d'action : sont-ils ou peuvent-ils être identiques chez l'animal et chez l'homme ?

Toutes les informations recueillies lors des étapes précédentes sont rassemblées et analysées qualitativement et quantitativement, afin de se prononcer sur la confiance à accorder sur la transposabilité du mécanisme d'action à l'homme.

En outre, d'autres informations sont utiles à intégrer à cette réflexion parmi lesquelles :

- les connaissances sur la nature et la fonction du système d'intérêt dont son développement ;
- sa structure (anatomique et histologique) et ses mécanismes de contrôle physiologique, cellulaire et biochimique ;

- l'existence de maladies humaines et animales procurant des indices sur la régulation de l'organe cible ;
- les réponses humaines et animales suite à l'administration de la substance chimique étudiée ou à une substance analogue pour des expositions courtes, intermédiaires et longues, en considérant les effets et organes cibles.

5.5. Discussion

A ce niveau, l'évaluateur doit conclure sur :

- l'identification des différents effets reprotoxiques néfastes (spécifiques à la reproduction et/ou au développement) ;
- l'identification des effets critiques reprotoxiques ;
- l'identification et la synthèse des études de bonne qualité ;
- l'identification des manques de connaissances.

Cette discussion permettra d'évaluer le caractère suffisant des informations analysées :

- absence de données ;
- études d'utilité limitée ;
- études acceptables pour la construction de VTR reprotoxiques ;
- études de bonne qualité pour la construction de VTR reprotoxiques.

6. CONSTRUCTION DE LA VTR REPROTOXIQUE

6.1. Choix de la dose critique

6.1.1. Identification et construction des doses repères

6.1.1.1. LOAEL / NOAEL

Le LOAEL et le NOAEL sont déterminés à partir d'une expérimentation animale grâce à un test statistique qui permet de détecter une différence significative dans les effets induits par une dose testée par rapport au témoin :

- le LOAEL est identifié à partir du test statistique parmi les doses testées. C'est la première dose testée, dans l'ordre croissant, qui produit un effet – considéré comme néfaste – d'une intensité ou d'une fréquence présentant une différence statistiquement significative avec le témoin (dose nulle). C'est donc la première dose du protocole pour laquelle on rejette l'hypothèse de départ. Il ne correspond pas à un seuil biologique mais à un seuil statistique qui dépend du protocole expérimental (figure 1) ;
- le NOAEL est défini comme la dose testée ne produisant pas d'effet significativement différent du témoin immédiatement inférieure au LOAEL. Lorsque la première dose testée (D_1) conduit déjà à un effet significativement différent du témoin, il n'est pas possible de définir un NOAEL. Le LOAEL défini dans une telle expérience ne devrait pas être accepté pour la construction d'une VTR car rien ne dit qu'une dose inférieure ne produit pas déjà un effet significatif.

Figure 1 : Relation dose – réponse et recherche du LOAEL

Un test statistique est un outil qui permet de choisir entre deux hypothèses, appelées respectivement hypothèse nulle et hypothèse alternative, au vu des résultats d'un calcul sur un échantillon. Dans notre cas, l'hypothèse nulle posée est l'égalité de réponse entre la dose D_i et le témoin, autrement dit

l'absence d'effet pour la dose D_i. On cherche la dose D_i pour laquelle cette hypothèse pourra être rejetée avec un risque au plus α de se tromper. α est appelé risque de première espèce ; il est choisi par l'opérateur. C'est la probabilité de conclure à tort en disant que la réponse produite par la dose D_i est différente du témoin (rejet de l'hypothèse nulle). Autrement dit, c'est la probabilité de dire que D_i produit un effet alors qu'elle n'en produit pas.
On appelle risque de deuxième espèce β la probabilité de se tromper en acceptant l'hypothèse nulle. Dans notre cas, c'est donc la probabilité de dire que D_i ne produit pas d'effet alors qu'elle en produit un (tableau IV).

Tableau IV : Hypothèses testées contre réalité et probabilités associées

Vérité (inconnue) Décision	Hypothèse nulle H_0 : D_i ne produit pas d'effet	Hypothèse alternative H_1 : D_i produit un effet
Hypothèse nulle H_0	$1-\alpha$	β
Rejet de H_0 Hypothèse alternative H_1	α	$1-\beta$

Si α est choisi par l'opérateur, en général dans les faibles valeurs : 0,1 ; 0,05 ; 0,01 ; β résulte de la valeur de α, du test choisi, de la taille de l'échantillon, du niveau et de la variabilité de la réponse et de l'hypothèse alternative. Si celle-ci n'est pas une égalité (et c'est notre cas), β n'est pas une valeur mais une fonction qui dépend du niveau d'effet inconnu mais réellement produit par la dose D_i. Pour se rendre compte du risque que l'on a de se tromper en rejetant l'hypothèse H_0, on peut calculer la valeur de β correspondant au cas où l'effet réellement produit par la dose D_i est égal à celui observé lors de l'expérience. Dans tous les cas, plus on veut être sûr de ne pas se tromper en rejetant une hypothèse, plus on a de chance de l'accepter à tort. Autrement dit, β varie dans le sens inverse de α. $1-\beta$ est appelé puissance statistique du test : le test est d'autant plus puissant que sa valeur est proche de 1.

Si la dose D_2, par exemple, est la première dose qui produit un effet significatif au risque $\alpha = 0,05$ par rapport au témoin, on posera LOAEL = D_2 et on est assuré (à $1-\alpha = 95$ %) qu'elle produit un effet. En revanche, on n'est pas assuré que la dose D_1, qui sera alors par définition le NOAEL, ne produise pas déjà un effet et il y a même de fortes chances que ce soit le cas. Plus on se fixe un α petit et plus on est sûr que le LOAEL produit un effet, mais plus il est probable que le NOAEL en produise également déjà un. Le risque de deuxième espèce β étant rarement estimé dans la pratique, on ne connaît pas la probabilité que le NOAEL produise un effet ; c'est pourtant cette probabilité qui nous intéresserait en premier lieu lors de la construction d'une VTR.

La démarche utilisée nous assure donc que le LOAEL produit un effet sans qu'il soit quantifié, mais ne nous garantit rien concernant l'innocuité du NOAEL.

Ce type d'approche est en fait plus adapté à la situation inverse : quand on veut prouver l'effet bénéfique d'un traitement par rapport à un témoin, placebo ou autres. En effet, dans ce cas, le risque de première espèce α, qui est la probabilité de se tromper en disant que le traitement a un effet, est bien celle qui nous intéresse en premier lieu. Il convient d'éviter de dire qu'un médicament à un effet alors qu'il n'en a pas.

Dans ce cadre, on peut montrer que le fait de comparer séparément chaque dose du traitement au témoin avec un seuil α n'est pas très pertinent. En effet, si pour une dose la probabilité de se tromper en disant qu'il y a un effet est de α = 0,05, sur 10 doses testées, la probabilité de se tromper au moins une fois est approximativement de $1-(1-0.05)^{10}=0.4$ (approximation pessimiste). En testant 10 doses, on a donc un risque de se tromper en disant que le traitement produit un effet supérieur au seuil que l'on s'était fixé.
Aussi, dès les années 50, des tests de multi-comparaisons permettant de pallier cet inconvénient ont été proposés. Ceux-ci garantissent que la probabilité de se tromper sur l'ensemble des doses est bien inférieure au seuil α défini par l'opérateur. Certains de ces tests comme le test de Dunnett et celui de Duncan sont également employés pour l'estimation du couple LOAEL / NOAEL [Waner, 1992].

Dans notre cas, ce type d'approches garantit, plus encore qu'un test deux à deux des concentrations, que le LOAEL produit bien un effet ; il conduit à des valeurs de LOAEL plus élevées et par conséquent augmente le risque que le NOAEL produise déjà un effet.

Les LOAEL et NOAEL ont été remis en cause ces dernières années par la communauté scientifique toxicologique pour les raisons suivantes [US EPA, 2000] :

- LOAEL et NOAEL font forcément parties des concentrations testées. Leurs valeurs numériques sont donc très dépendantes du protocole expérimental ;
- leurs valeurs dépendent aussi directement de la taille des échantillons. La capacité d'une expérimentation à distinguer un effet entre une dose et le témoin augmente avec la taille des échantillons. Plus les échantillons utilisés sont de faible taille, plus le NOAEL est élevé et, par conséquent, plus le risque que le NOAEL produise un effet (risque de deuxième espèce) est grand ;
- on constate en pratique que plus l'expérience est de faible qualité, plus le NOAEL est élevé, ce qui n'est pas protecteur pour la santé publique ;
- on ne dispose en aucun cas d'intervalle de confiance pour ces valeurs. On ne dispose pas non plus d'un niveau de précision ou d'un ordre de grandeur pour son incertitude, puisque bien

souvent les valeurs expérimentales qui ont conduit à la détermination du couple LOAEL / NOAEL ne sont plus disponibles ;

- le niveau d'effet produit réellement par le NOAEL n'est pas connu. D'après Allen *et al.* [1994], pour les effets sur le développement par exemple, le pourcentage de réponse (effet néfaste) associé à un NOAEL serait en moyenne compris entre 5 et 20 %.

C'est pourquoi Crump [1984] proposait la Benchmark dose (BMD), historiquement utilisée dans le domaine des VTR cancérogènes, comme démarche alternative. Deux approches alternatives à l'estimation du couple NOAEL / LOAEL sont présentées ci-dessous.

6.1.1.2. MAXSD

L'estimation d'une dose maximale sans effet néfaste MAXSD [Tamhane *et al.*, 2001] n'est pas fondée sur le rejet d'une hypothèse d'absence d'effet, mais sur le rejet d'une hypothèse d'effet néfaste produit. Le risque de première espèce α est, dans ce cas, la probabilité de dire que la MAXSD ne produit pas d'effet alors qu'elle en produit un (tableau V) ; c'est donc celle qui nous intéresse particulièrement pour la construction d'une VTR. Cette probabilité choisie par l'opérateur peut être définie aussi faible que voulu.

Tableau V : Hypothèses testées et risques associés pour le calcul d'une MAXSD

Vérité (inconnue) Décision	Hypothèse nulle H_0 : D_i produit un effet supérieur à un seuil choisi	Hypothèse alternative H_1 : D_i ne produit pas d'effet supérieur au seuil choisi
Hypothèse nulle H_0	$1-\alpha$	β
Hypothèse alternative H_1	α	$1-\beta$

Dans cette approche, il faut définir ce que signifie « produire un effet néfaste ». Concrètement, le toxicologue définit un pourcentage maximal δ d'écart tolérable par rapport à la réponse observée sur le témoin. Est considérée comme « sans effet néfaste » une réponse incluse dans un intervalle du type : $E_0(1\pm\delta)$ où E_0 est la réponse associée au témoin et δ le pourcentage maximal d'écart toléré. δ doit être fondé sur des critères biologiques et toxicologiques, plus que statistiques. La MAXSD est alors définie comme la dose maximale testée pour laquelle l'effet est inclus dans l'intervalle $E_0(1\pm\delta)$, avec un risque α de se tromper. Par exemple, si δ = 10 % et α = 0,05, alors MAXSD a 1-α = 95 % de chance de ne pas produire plus de 10 % d'effet par rapport au témoin. L'hypothèse nulle testée à chaque dose D_i est qu'elle produit un effet néfaste, c'est-à-dire qu'elle conduit à un effet en dehors de l'intervalle $E_0(1\pm\delta)$. Les doses étant testées dans l'ordre décroissant, la première dose qui permet de rejeter l'hypothèse nulle est la MAXSD.

Contrairement au NOAEL, on est assuré que l'effet engendré par la MAXSD ne dépasse pas un pourcentage δ par rapport au témoin. Son effet est donc borné et cette borne δ doit être définie par

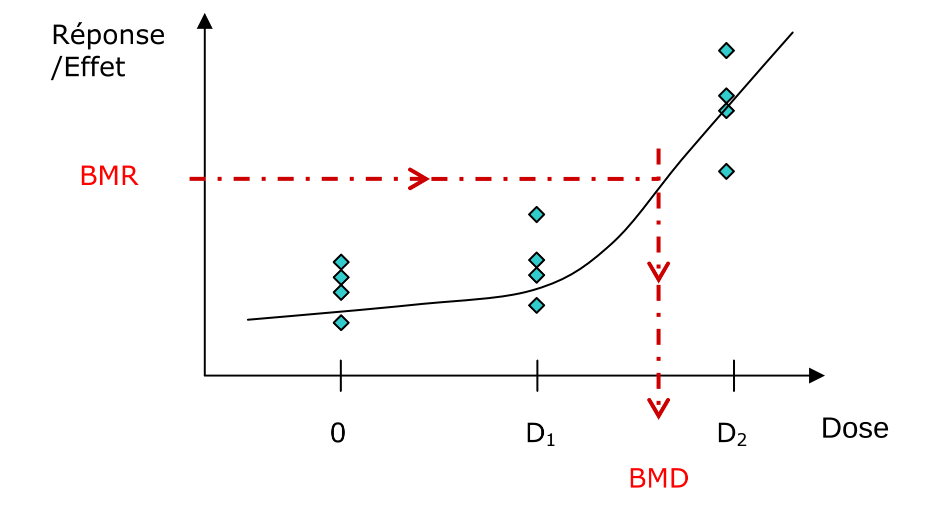
l'opérateur en explicitant la notion d'effet néfaste. En revanche et à l'instar du NOAEL, la MAXSD fait partie des doses testées. Si aucune dose ne permet de rejeter l'hypothèse nulle (hypothèse d'un effet néfaste), la MAXSD ne peut être déterminée.

D'un point de vue théorique, cette approche est donc plus satisfaisante que l'approche NOAEL / LOAEL ; d'un point de vue pratique également car si la MAXSD n'existe pas, l'expérience est inexploitable. On ne peut se trouver dans la situation ambiguë (et néanmoins fréquente) où l'on dispose d'un LOAEL sans NOAEL. Cette approche est manifestement très peu usitée, ce qui est facilement explicable : l'incertitude et la variabilité conduisent dans celle-ci à baisser la valeur toxicologique et ce contrairement à ce qui se passe dans l'approche LOAEL / NOAEL. Par ailleurs, elle apparaît moins souple que l'approche BMD.

6.1.1.3. Benchmark dose

Une BMD peut être estimée à partir des mêmes résultats expérimentaux que les NOAEL / LOAEL ou la MAXSD. L'objectif de cette démarche est d'estimer la dose correspondant à un niveau de réponse défini ou à un pourcentage défini de réponse supplémentaire par rapport au témoin (figure 2). Ce niveau ou ce pourcentage est appelé BMR pour *BenchMark Response level*. Cette démarche se décline en différentes étapes succinctement décrites ci-dessous. C'est majoritairement la BMDL, autrement dit la limite inférieure de l'intervalle de confiance de la BMD, qui est considérée comme dose repère.

Figure 2 : Relation dose – réponse et définition de la BMD



Cette approche peut être employée sur des données de type quantale ou dichotomique (la réponse du test s'exprime sous la forme d'un nombre ou d'un pourcentage d'animaux affectés pour chaque dose) ou continue (la réponse du test est un paramètre continu mesuré sur les individus). Les données de reprotoxicité sur le développement (doses administrées sur les mères et effets observés sur la descendance) ont fait l'objet de développements particuliers pour prendre en compte l'effet

« portée », autrement dit le fait qu'à dose équivalente deux descendants issus d'une même portée ont plus de chance de produire une même réponse que deux descendants issus de deux portées différentes.

Des outils tels que *BMD Software* de l'US EPA et *PROAST* du RIVM ont été développés ces dernières années spécifiquement pour l'estimation des BMD / BMDL. Le concept de BMD est bien expliqué dans une synthèse récente de Filipsson *et al.* [2003].

Modèles théoriques de relation dose – réponse ou dose – effet

L'estimation d'une BMD s'appuie sur un modèle théorique de relation dose – réponse ou dose – effet. Les modèles fondés sur les mécanismes biologiques, quand ils existent, sont en général constitués de nombreux paramètres. Le nombre de paramètres devant toujours être inférieur au nombre de points expérimentaux, ce type de modèles est rarement utilisable dans la pratique. Des modèles mathématiques ou statistiques sont donc la plupart du temps employés. Il faut néanmoins être vigilant sur le fait qu'ils soient biologiquement acceptables [Slob, 2002], c'est-à-dire qu'ils n'aient pas des caractéristiques mathématiques en contradiction avec les phénomènes biologiques (réponse négative par exemple alors que l'on étudie un paramètre strictement positif), ou bien restreindre le domaine d'ajustement des paramètres.

Les modèles retenus pour les données quantales sont principalement fondés sur les fonctions de distribution de probabilité, telle que gamma, weibull, logistique, probit, *etc.* [Cal/EPA, 2004a ; Parham, 2005]. On distingue les modèles dans lesquels le risque à la dose zéro peut être choisi *a priori* par l'opérateur des modèles pour lesquels cela n'est pas possible (logistique et probit par exemple).

Les modèles mathématiques retenus pour les données continues sont variés : linéaire, polynomial, puissance, exponentiel, *etc.* [Cal/EPA, 2004b ; Slob 2002].

Les effets reprotoxiques sont considérés à seuil de dose, or les modèles précédemment cités sont sans seuil. On peut voir là comme un paradoxe. Il est naturellement possible de construire à partir des fonctions citées des modèles par morceaux prenant en compte explicitement un seuil de dose en dessous duquel aucun effet ne doit être observé chez aucun individu et au dessus duquel les effets apparaissent [Crump, 1984]. Ce seuil étant un paramètre du modèle, il est estimé comme les autres. Pourquoi alors considérer une BMD si on peut estimer (avec un intervalle de confiance) le paramètre que l'on recherche ? Il se trouve que l'ajustement d'un modèle par morceaux et la détermination des niveaux de confiance associés sont délicats et ce d'autant plus que le nombre de données est faible (en premier lieu déjà car cela ajoute un paramètre à un modèle qui en contient déjà pratiquement autant que le nombre de doses testées). L'estimation de ce seuil de dose par un tel modèle ne sera donc pas possible dans la majorité des cas, c'est-à-dire si on n'a pas testé plusieurs doses autour de cette valeur seuil. Il est donc préférable d'utiliser un modèle sans seuil et

d'estimer la dose correspondant à un certain niveau d'effet, faible. Il n'est pas à exclure dans certains cas, et ce d'autant plus que le niveau d'effet retenu est faible, que la BMD estimée soit inférieure au seuil d'effet réel, s'il existe (comme cela peut également se produire pour un NOAEL). Ainsi, dans la pratique, l'utilisation de l'approche BMD tend implicitement à omettre le principe du seuil sans effet au profit d'une dose dont le niveau d'effet, s'il n'est pas nul, est faible et contrôlé.

Spécificité des données sur le développement

Des approches permettant la prise en compte de l'effet « portée » (corrélation entre les individus d'une même portée) pour les données sur le développement ont été proposées dès la fin des années 70 [Williams, 1975] et sont l'objet d'une littérature importante. Elles nécessitent la modélisation d'une strate supplémentaire dans la démarche et augmentent *de facto* également le nombre de paramètres à estimer. Elles ne peuvent être employées que si on dispose des données complètes et non agrégées (comme c'est souvent le cas dans les publications) des résultats du test toxicologique et en particulier le nombre de descendants et celui des individus affectés de chaque portée (données quantales) ou l'effet observé sur chaque individu de chaque portée (données continues). Ces approches ont été initialement développées et sont encore largement fondées sur l'hypothèse d'une distribution bêta-binomiale (données quantales) du nombre d'individus affectés [Chen, 1989] : au sein d'une portée, le nombre d'individus affectés suit une loi de distribution binomiale de probabilité *p*, cette probabilité suivant elle-même une loi bêta dépendant de la dose considérée.

Cette approche s'est généralisée de plusieurs manières :

- l'hypothèse de loi bêta-binomiale est relâchée par l'emploi de la méthode « *Generalized Estimating Equations* » (GEE) [Liang and Zeger 1986 ; Fung *et al.* 1998] qui peut également être utilisée sur des données continues ;
- la corrélation inter-portée peut dépendre de covariables comme la taille de la portée [Rai and Van Ryzin 1985] ;
- plusieurs indicateurs relevés lors du test comme la mort prénatale et le taux de malformation chez les survivants peuvent être traités simultanément et non individuellement (*multiple outcomes approach*) [Chen and Kodell 1991 ; Fung *et al.* 1998 ; Gaylor *et al.* 1998].

Bien que plus complexe au niveau des calculs, la prise en compte de la corrélation inter-portée apparaît pertinente et recommandée par de nombreux auteurs et en particulier pour l'estimation correcte de l'incertitude qui est sous-estimée si l'effet « portée » n'est pas pris en compte [Kupper, 1986]. L'hypothèse de la loi bêta-binomiale peut néanmoins être préjudiciable [US-EPA, 2000] si elle n'est pas vérifiée, d'où l'utilisation accrue de l'approche GEE. Nous noterons que l'approche bêta-binomiale est implémentée dans le logiciel BMD *Software* de l'US EPA. Si on souhaite élaborer une dose repère prenant en compte différents indicateurs (données sur le développement), il est

préférable d'utiliser une approche conjointe (*multiple outcomes approach*) que de traiter séparément des différents indicateurs [Fung *et al.* 1998].

Ajustement du ou des modèles sur les données expérimentales

Le choix, *a priori*, d'un modèle mathématique ou d'une famille de modèles étant fait, il faut ajuster ce ou ces modèles sur les données expérimentales, autrement dit déterminer les valeurs des paramètres du modèle de manière à ce que celui-ci s'adapte le mieux aux données. Plusieurs approches sont possibles mais la plus courante est celle du Maximum de Vraisemblance. Les valeurs des paramètres retenues sont celles qui maximisent la probabilité d'occurrence des valeurs expérimentales observées. L'incertitude liée aux données expérimentales est à l'origine d'un intervalle de confiance sur ces paramètres. Nous ne décrirons pas plus cette approche car il existe de nombreux ouvrages traitant de ces questions et nous considérons que l'opérateur n'aura pas à programmer lui-même ces calculs.

Le modèle étant ajusté, se pose la question de sa légitimité : le modèle peut-il être considéré comme adapté à l'évolution des données. L'utilisation d'un test d'ajustement (*goodness-of-fit test*) comme le test du Chi2 de Pearson permet de répondre à cette question. L'hypothèse H_0 de ce test est que le modèle est adapté aux données. Si cette hypothèse n'est pas rejetée, le modèle sera considéré comme valable. Néanmoins d'autres critères sont à prendre en considération : l'analyse des résidus (écarts entre la valeur prédite par le modèle et les valeurs observées) et de manière plus subjective l'analyse visuelle graphique du modèle [Cal/EPA, 2004].

Sélection du modèle le plus adapté aux données

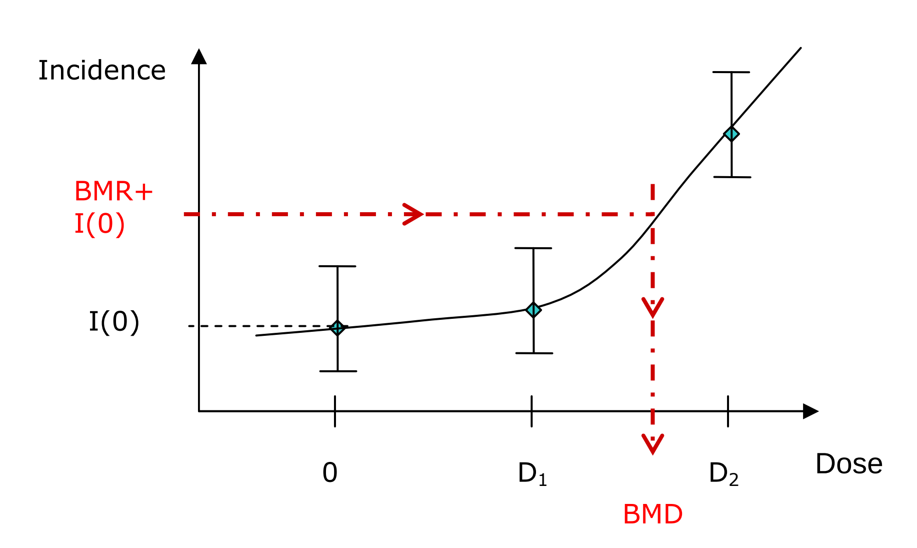
Le choix d'un modèle de relation dose – réponse ou dose – effet n'étant pas toujours évident, il peut être pertinent d'en ajuster plusieurs sur les données expérimentales et de décider au travers de critères statistiques lequel est le plus adapté aux données. Il n'y a malheureusement pas de critères universels et absolus pour faire ce choix. La *p-value* du test d'ajustement du Chi2 qui mesure l'adéquation du modèle aux données expérimentales n'est pas à lui seul un critère suffisant pour choisir un modèle parmi plusieurs. En effet, plus un modèle contient de paramètres, plus il a de degrés de liberté, et donc plus il a de chance de bien s'ajuster à un jeu de données. En revanche, plus le nombre de paramètres du modèle est important, moins l'ajustement est robuste. D'autres critères comme celui d'Akaike [1973] appelé AIC (*Akaike Information Criterion*) contrebalancent la qualité d'ajustement du modèle par le nombre de paramètres. Ce critère est classiquement utilisé pour comparer des modèles qui sont ajustés par une même méthode d'ajustement (maximum de vraisemblance par exemple). Le modèle qui a la valeur du critère AIC la plus faible est retenu. Dans le cas particulier où les modèles testés appartiennent à une même famille de fonctions, un test fondé sur le ratio de vraisemblance peut être utilisé pour tester deux à deux les modèles.

Définition de la BMR

Dans le cas de données quantales (proportion d'animaux affectés), la BMD_x est définie comme la dose qui engendre une augmentation de *x* % de l'incidence par rapport au témoin. Cette augmentation de *x* % (appelée *BMR*) choisie par l'opérateur peut être définie de deux manières par rapport à la réponse du témoin :

1. comme un écart par rapport à l'incidence du témoin : $BMR = I(BMD) - I(0)$ où $I(BMD)$ est l'incidence de la dose correspondant à la BMD et $I(0)$ l'incidence au sein du groupe témoin. La BMD est donc obtenue de la manière suivante : $BMD = Dose[I(0) + BMR]$ (figure 3 ci-dessous). On parle alors d'*additional risk* ;

Figure 3 : Relation dose – réponse sur données quantales



2. comme un pourcentage par rapport à l'amplitude maximale de l'incidence observable : $BMR = \frac{I(BMD) - I(0)}{1 - I(0)}$. Dans ce cas la BMD sera définie de la manière suivante : $BMD = Dose[I(0) + (1 - I(0)) \times BMR]$. On parle alors d'*extra risk*. Ce cas de figure correspond à la situation où l'effet de base (*background*) et l'effet lié à la substance sont indépendants et additifs, ce qui justifie l'emploi prépondérant de cette approche *extra risk*. Qui plus est, à niveau de BMR équivalent, elle conduit mathématiquement à une BMD plus faible que l'approche *additional risk.*

Dans le cas des données continues, la BMR peut également être définie de plusieurs manières :

1. comme un écart absolu par rapport à l'effet observé sur le témoin : $BMR = E(BMD) - E(0)$ où $E(BMD)$ est l'effet engendré par la BMD et $E(0)$ est l'effet observé chez le contrôle [Allen *et al.*, 1994]. Dans ce cas la BMR a la même unité que l'effet mesuré ;

2. comme un écart relatif par rapport à l'effet observé sur le témoin : $BMR = \frac{E(BMD) - E(0)}{E(0)}$ [Slob, 2002]. Dans ce cas, la BMR est sans unité, mais ce n'est pas un pourcentage pour autant ;

3. comme un écart par rapport à l'effet observé sur le témoin standardisé par la variance de l'effet observé sur le témoin (σ) : $BMR = \frac{E(BMD) - E(0)}{\sigma}$ [Crump, 1995] ;

4. comme un écart rapporté à la plus grande variation possible de l'effet : $BMR = \frac{E(BMD) - E(0)}{E(\infty) - E(0)}$ [Murrell *et al.*, 1998]. Dans ce cas la BMR peut être assimilée à un pourcentage.

Suivant le choix effectué, la BMR est de nature différente. Qui plus est, le choix d'une approche est souvent difficile à justifier d'un point de vue biologique. Ces différentes définitions de la BMR rendent les BMD fondées sur des données continues peu comparables entre elles, et peu comparables également aux BMD issues de données quantales [Crump, 2002].

Approche hybride

Plusieurs auteurs dont Crump [2002] ont considéré qu'il était pertinent de rendre les estimations de BMD fondées sur des données quantales et continues méthodologiquement comparables et ont proposé une approche adaptée.
On appelle approche hybride la démarche qui consiste à modéliser à partir d'une réponse continue la probabilité d'observer un effet néfaste au sein du modèle animal. Pour cela, il faut préalablement se fixer le seuil à partir duquel on considère que l'effet est néfaste (comme dans l'approche MAXSD) où la probabilité d'observer un effet néfaste au sein du groupe non exposé. On transforme ainsi le problème continu en un problème quantal. C'est une autre manière de traiter les données continues. Crump [2002] a montré que l'approche hybride était plus pertinente en particulier dans l'estimation des intervalles de confiance que la transformation directe d'une variable continue en une variable quantale.

Choix du niveau d'effet

On distinguera clairement à cette étape les BMD élaborées sur données quantales des BMD sur données continues (approche hybride comprise). Dans le cas de données quantales, le choix du

pourcentage BMR revient à l'opérateur en fonction de considérations du type « sensibilité du test » ou « sévérité de l'effet étudié ». Les valeurs de 1 %, 5 % ou 10 % sont les plus classiquement proposées. Selon l'US EPA [US EPA, 2000] :

- un excès de risque de 10 % doit être pris par défaut pour les données quantales. Ces 10 % représentent la plupart du temps la limite de sensibilité des tests toxicologiques de cancérologie ou autres ;
- un excès de risque de 5 % est proposé pour certaines études dont la sensibilité est plus importante comme les études sur la reproduction et le développement ;
- un excès de risque de 1 % peut être proposé pour des résultats d'études épidémiologiques humaines qui ont en général la sensibilité suffisante.

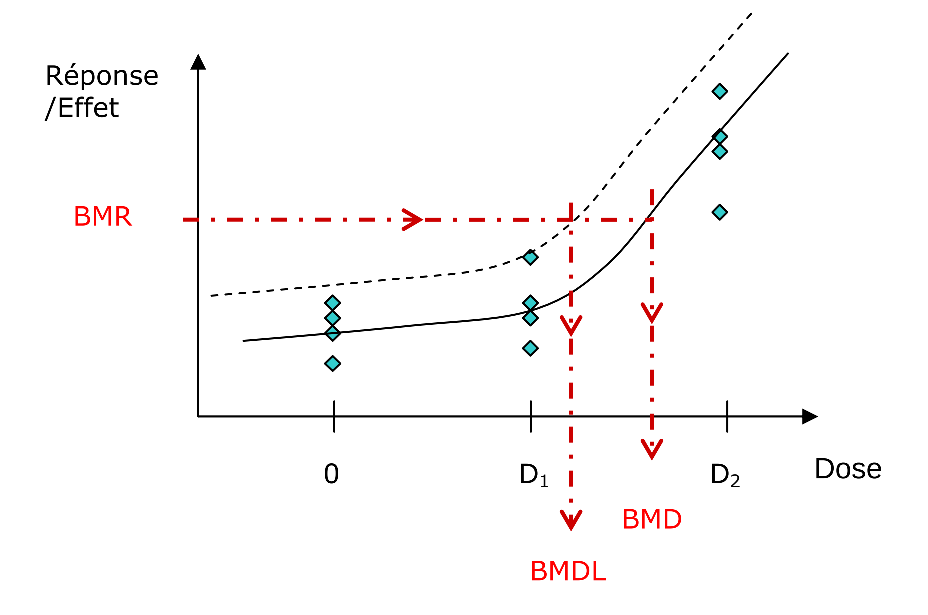
Les données continues forcent l'opérateur à définir le niveau d'effet à considérer comme néfaste sur des considérations biologiques ou par l'analyse des données de témoins historiques. En l'absence de seuil d'effet biologique considéré comme néfaste, Crump [1995], pour l'approche Hybride, considère comme seuil la valeur de la moyenne du témoin plus ou moins une fois l'écart type du témoin. Gaylor [2004] propose d'utiliser les valeurs des quantiles 1 % et 99 %. Il y a donc une certaine diversité dans les valeurs retenues [US EPA, 2000]. Ce problème rend le développement des BMD sur les données continues plus délicat.

Calcul de l'intervalle de confiance (IC) de la valeur estimée

La valeur retenue pour l'élaboration d'une VTR n'est pas la BMD, mais la plupart du temps, la borne inférieure de l'intervalle de confiance de la BMD (figure 4), appelée BMDL.

Plusieurs méthodes de calcul de l'intervalle de confiance de la BMD sont possibles, principalement : le ratio du maximum de vraisemblance et le Bootstrap [Crump, 1995]. Elle doit être dans tous les cas adaptée à l'approche initialement utilisée pour l'ajustement de la courbe dose – réponse ou dose – effet. L'approche fondée sur le ratio du maximum de vraisemblance était préconisée par Crump [Crump 1995].

Figure 4 : Relation dose – réponse et définition de la BMDL



<u>**Choix de la borne de l'IC pour la valeur retenue (BMDL)**</u>

La borne inférieure à 95 % est la plus classiquement retenue : par exemple, avec une $BMD_{10}L_{95}$, on est sûr à 95 % que l'effet de la BMDL ne dépasse pas 10 % par rapport au témoin. L'intervalle de confiance considéré rend compte de l'incertitude liée au caractère plus ou moins aléatoire de la réponse d'un individu à une dose de toxique dans le groupe d'animaux. Il dépend du modèle animal considéré, de l'effet observé et du protocole expérimental (nombre d'animaux, nombre de doses, *etc.*). Si on répète un grand nombre de fois la même expérience avec le même protocole et le même modèle animal, on s'attend à ce que la BMD calculée à chaque expérience soit 95 fois sur 100 supérieure à la valeur de la BMDL, telle que précédemment définie. Sur une population infinie du même modèle animal, on a, au plus, 95 % de chance que la BMDL produise 10 % d'effet.

Cet intervalle de confiance :

- ne rend pas compte d'une réelle variabilité intra-espèce, car la variabilité observée au sein d'un groupe d'animaux de laboratoire est très inférieure à la variabilité en milieu naturel (à espèce identique) ;
- n'indique rien concernant une possible transposition des résultats de l'animal à l'homme ;
- n'indique rien si le modèle animal ou le protocole expérimental sont modifiés (exposition, alimentation, *etc.*) ;
- ne dit pas que la BMDL est une valeur sans effet.

Prendre pour seuil de référence la borne inférieure de l'intervalle de confiance de la BMD, c'est s'assurer que le résultat fourni n'est pas uniquement celui de l'expérience en question, mais plus

généralement celui de toute expérience réalisée avec le même protocole et le même modèle animal pour le même effet.

Contrairement au NOAEL, plus la taille des échantillons et le nombre de doses testées sont faibles, plus la BMDL est faible ; la BMDL pénalise donc le protocole expérimental de moins bonne qualité et s'avère ainsi plus protectrice pour la santé publique que l'approche NOAEL / LOAEL.

Les comparaisons menées par Allen [1994] entre NOAEL et BMDL sur des résultats d'études de toxicité sur le développement font apparaître des ratios moyens respectivement de l'ordre de 1,2 et 0,7 entre NOAEL et BMD_5L_{95} et NOAEL et $BMD_{10}L_{95}$ sur des données continues, mais des ratios moyens respectivement de l'ordre de 6 et 3 entre NOAEL et BMD_5L_{95} et NOAEL et $BMD_{10}L_{95}$ pour des données quantales. Autrement dit, d'après l'étude d'Allen, les BMDL seraient du même ordre de grandeur que les NOAEL pour les données continues mais de plus faible valeur pour les données quantales.

La plupart des auteurs dont l'US-EPA proposent l'utilisation de la BMDL car l'un des apports de la démarche est justement le calcul d'un intervalle de confiance non disponible dans l'approche LOAEL / NOAEL et prenant en compte l'incertitude liée au protocole expérimental. En revanche, Murrell *et al.* [1998] la réfutent et considèrent que la dose de référence doit être fondée sur la BMD (estimation moyenne) représentative de la toxicité de la substance et ne pas dépendre du protocole expérimental, de la méthode de calcul de l'intervalle de confiance, *etc.* Par ailleurs, ils remarquent que, dans le cas de faible protocole expérimental, la BMDL peut être inférieure de plus d'un ordre de grandeur à la BMD, ce qui interroge sur la vraisemblance de son utilisation.

Bien que développée depuis les années 80, l'approche BMD est encore peu utilisée car elle apparaît plus complexe ; néanmoins elle permet entre autre :

- d'élaborer une relation dose – réponse en prenant en compte l'ensemble des résultats de l'expérimentation animale ;
- de rendre explicite des choix ou hypothèse (niveau d'effet jugé comme néfaste par exemple) bien souvent implicite dans l'approche NOAEL / LOAEL ;
- de quantifier le niveau d'effet de la dose retenue et de lui associer un intervalle de confiance ;
- d'être plus conservatoire pour la santé publique en produisant des valeurs d'autant plus basses que l'incertitude est importante (études de qualité moyenne).

6.1.2. Retour d'expérience de l'étude de faisabilité

La phase pilote présentée en annexe 2 a porté sur six substances : linuron, 2-éthoxyéthanol (EGEE), di-n-butylphtalate (DnBP), butylbenzylphtalate (BBP), nonylphénol et toluène. Cette étude nous a permis premièrement de constater que les informations statistiques relatives à l'estimation du couple

LOAEL / NOAEL n'étaient pas toujours explicites dans les articles, en particulier le test qui a mis en évidence le LOAEL et le niveau de significativité associé. Aucune BMD n'était disponible pour les substances et effets considérés. Une étude de faisabilité sur la construction de benchmark doses (BMD) a alors été réalisée pour trois substances : le Di-n-butyl phtalate, le linuron et le 2-éthoxy-éthanol concernant des effets sur le développement. Les études utilisées sont citées dans le tableau VI et les résultats sont présentés en détails en annexe 3.

Tableau VI : Etudes utilisées pour tester la construction de BMD

	DnBP	Linuron	EGEE
Etude utilisée	Lee *et al.*, 2004	McIntyre, 2000	Doe *et al.*, 1984
Effet critique	diminution des spermatocytes	hypoplasie des testicules	fœtotoxicité
Protocole d'échantillonnage	4 groupes de dose + témoin 8 animaux examinés par dose	3 groupes de dose + témoin 44-69 animaux examinés	3 groupes de dose + témoin 96-136 animaux examiné

Les BMD / BMDL ont été construites à partir du logiciel BMDS version 1.3.2., disponible gratuitement sur le site Internet de l'US EPA. Différents modèles mathématiques ont à chaque fois été testés. La méthode d'ajustement du modèle aux données est le maximum de vraisemblance. Le calcul de la BMDL est fondé sur la distribution asymptotique du ratio de vraisemblance (Chi2). Le niveau de confiance associé à la BMDL est systématiquement 95 %.

Les points à retenir de cette expérience sont développés ci-dessous.

Les modèles de BMD prenant en compte un effet « portée » n'ont pas pu être employés car les informations nécessaires (par portée) n'étaient pas disponibles dans les articles concernés.

L'analyse des données du **DnBP** fait apparaître une $BMD_{10}L$ de plusieurs ordres de grandeur inférieure à la BMD_{10}, témoignant d'une grande incertitude qui est liée, d'une part, au faible nombre d'individus examinés par dose (8) et, d'autre part, au fait que la première dose testée (qui correspond d'ailleurs au LOAEL) produit déjà 50 % d'effet sur l'échantillon, alors qu'aucun effet n'est constaté sur le témoin. En l'absence de NOAEL et parce que la BMDL apparaît irréaliste, se pose alors la question de l'utilisation de la BMD versus le LOAEL. Faut-il rejeter l'utilisation de la BMD qui produit un effet faible mais incertain au profit d'un LOAEL dont l'effet est fort ? On constate en tout cas que la valeur du ratio « LOAEL / 10 » est encore supérieure à celle de la BMD estimée et naturellement très supérieure à la BMDL.
Pour cet exemple, le fait de rendre explicite les incertitudes dans l'approche BMD ne doit pas conduire au paradoxe qui consisterait à rejeter la BMD au profil du couple LOAEL / NOAEL pour lequel aucune confiance n'est estimable. Notamment, l'utilisation d'une BMD versus une BMDL ne

peut de toute façon se faire sans facteur de sécurité en sus, car, dans le cas contraire, cela favoriserait les faibles protocoles expérimentaux. En fait, dans un tel cas, la question principale consiste à savoir si les données disponibles sont suffisantes pour élaborer une VTR.

Pour le **Linuron**, BMD_{05} et $BMD_{05}L$ sont très proches l'une de l'autre et proches également de la LOAEL, première dose testée et qui est associée à un faible pourcentage d'effet observé. Le choix de la $BMD_{05}L$ plutôt que du LOAEL n'aura dans ce cas pas d'impact sur la valeur finale de la VTR proposée sauf si le LOAEL est divisé par 10. Néanmoins, l'interprétation est très différente : dans un cas (BMDL), c'est une valeur dont on est presque sûr qu'elle ne produit pas plus de 5 % d'effet et dans l'autre (LOAEL), c'est une valeur dont on est presque sûr qu'elle produit un effet sans le quantifier précisément. Pour l'évaluateur de risque, comme pour le gestionnaire, cette différence n'est pas anodine. Qui plus est, il serait possible d'estimer une BMDL correspondant à un niveau d'effet plus faible.

Ce cas amène également une discussion sur la pertinence toxicologique du modèle de relation dose – réponse employé et retenu sur des critères statistiques et ce pour deux raisons :

1. le modèle retenu conduit à un « bruit de fond » potentiel de 0,35 % d'effet (difficile à observer sur un échantillon de 50 individus) sachant qu'aucun n'effet n'est observé sur le témoin. Cette valeur, très éloignée du niveau d'effet auquel on s'intéresse (5 %) n'a évidemment pas ou très peu d'influence sur la valeur de la BMDL. Néanmoins on peut se poser la question de la crédibilité de l'existence d'un « bruit de fond » non nul pour ce type d'effet.
2. la dose la plus élevée a dû être retirée de l'analyse sans quoi aucun modèle ne pouvait être ajusté. Cette pratique est clairement proposée par l'US EPA [2000] dans une telle situation car, pour l'élaboration de la VTR, on s'intéresse en premier lieu aux données expérimentales se trouvant à proximité du niveau d'effet de la BMD que l'on souhaite estimer (généralement 1 à 10 %). Quelles sont néanmoins les limites de cette pratique ?

Pour l'**EGEE**, il est apparu impossible d'établir une BMD sur les effets de fertilité car seule une dose conduisait à un résultat différent du témoin. Le protocole expérimental est dans ce cas tout aussi inadapté à l'estimation d'une BMD qu'à celle du couple LOAEL / NOAEL. Les données de développement font apparaître un niveau d'effet sur le témoin de 50 % environ et une variabilité de l'effet (dents de scie) importante sur les premières doses. L'approche BMD / BMDL conduit dans ce cas à des valeurs bien plus faibles que l'approche LOAEL / NOAEL qui n'est pas adaptée à ce cas de figure. On peut s'interroger sur le choix de cet effet critique pour l'élaboration d'une VTR quel que soit le type de la dose repère retenue.

Comme on peut le constater, la construction de la BMD / BMDL conduit, systématiquement et explicitement, à se poser des questions sur le protocole expérimental, sur l'effet critique analysé et

les incertitudes / variabilités liées à l'estimation de la dose repère ainsi que sur son interprétation. Elle permet de renforcer les discussions entre toxicologues et statisticiens.

Cependant, les exemples ci-dessus ne prétendent pas illustrer l'ensemble des situations et révéler toutes les questions inhérentes au choix d'une dose critique. Ils font ressortir la nécessité de compléter un tel travail.

6.1.3. Présentation des doses repères

Afin qu'une discussion collective puisse s'engager sur le choix final de la dose repère à utiliser, le maximum d'informations sera présenté :

1. fournir le couple NOAEL / LOAEL pour chacun des effets critiques retenus et chaque type d'exposition pertinente. Un LOAEL seul sera discuté de manière plus contraignante. Avec le couple, il apparaît également nécessaire de fournir l'incidence de la réponse donnée, correspondant au LOAEL et au NOAEL ;
2. fournir le nom du ou des tests qui ont servis à déterminer ce couple NOAEL / LOAEL ainsi que la valeur du risque de première espèce α considérée ;
3. fournir la MAXSD si elle a été estimée (étude spéciale) ;
4. fournir une ou plusieurs BMD / BMDL, correspondant à une BMR de 5 et 10 % si cela est possible. Toutes hypothèses ou choix de calcul effectués au cours de la démarche seront décrits et justifiés, en particulier : (1) le logiciel utilisé pour l'ajustement et la méthode d'ajustement ; (2) les modèles de relation dose – réponse testés ; (3) le mode de calcul de la BMR et le ou les pourcentages d'effet retenus ; (4) la méthode de calcul et le niveau de confiance de la BMDL. Tous les résultats intermédiaires seront présentés, en particulier : (i) les résultats d'ajustement (valeurs et écart type des valeurs des paramètres, *p-value* du test du Chi2 de Pearson) ; (ii) les résultats des comparaisons inter-modèles ; (iii) les valeurs des BMD et des BMDL conjointes. Une approche hybride peut être proposée pour les données continues pour comparaison ou en remplacement de l'approche directe.

Sont privilégiés, *a priori,* dans l'ordre :

- **l'approche BMD / BMDL ;**
- **la MAXSD si elle existe ;**
- **le couple NOAEL / LOAEL ;**
- **enfin, en dernière intention, un LOAEL seul ou un NOAEL seul.**

Néanmoins, et *in fine*, le choix de la dose critique résulte d'une discussion collégiale sur les différentes doses repères.

A ce stade, une présentation devant un groupe pluri-disciplinaire d'experts est donc nécessaire, afin de discuter des différentes doses repères possibles pour appréhender leur pertinence et leur signification. Cela permettra d'estimer la confiance à accorder à la VTR. Le débat contradictoire est ici indispensable.

6.2. Choix des facteurs d'incertitude

Les facteurs d'incertitude (UF) reflètent à la fois l'incertitude scientifique existante sur la transposition d'une espèce et d'un individu à l'autre comme sur la transposition d'une situation d'exposition à une autre ou sur la disponibilité des connaissances au moment de la construction de la VTR. Leur application suit certaines règles qui ne sont pas immuables, permettant d'apporter des modifications au cas par cas. La discussion avec des experts lors du choix de ces facteurs est donc nécessaire.
Les différents facteurs d'incertitude proposés dans la littérature pour la construction des VTR [IPCS 1994 ; ECETOC, 1995, 2003 ; European Commission, 2001 ; Commonwealth of Australia, 2002 ; US EPA, 2002 ; IEH, 2003 ; OEHHA, 2003] sont présentés dans le tableau VII. Ces facteurs d'incertitude ne sont pas spécifiques des VTR reprotoxiques.

Tableau VII : Facteurs d'incertitude proposés dans la littérature pour la construction de VTR

Acronyme	Interprétation des UF	Valeurs des UF
UF_A	Variabilité inter-espèce cinétique/dynamie	1- 4/ 2,5 ou 1-3,16/3,16 (10)
UF_H	Variabilité inter-individuelle cinétique/dynamie	1- 3,16/ 3,16 (10)
UF_L	Usage d'un LOAEL plutôt que d'un NOAEL	1, 3 ou 10
UF_S	Transposition d'une exposition subchronique à chronique	1, 3 ou 10
UF_D	Insuffisance des données (en qualité et en quantité)	1, 3 ou 10
	Sévérité de l'effet	1, 3 ou 10

La valeur haute de 10 pour chaque UF est utilisée par défaut, lorsque aucune connaissance ne permet de la réduire. L'application d'une valeur plus faible doit être argumentée par des éléments scientifiques pertinents. Les valeurs de 10 pour ces UF sont fondées sur les méthodes d'évaluation internationales dont l'argumentaire est détaillé ci-après.
La valeur numérique finale de l'UF est un indicateur de la confiance que l'on peut avoir dans la VTR. Si l'ensemble de ces facteurs est appliqué, on peut se retrouver avec un UF global de 100 000 qui est considéré par les organismes d'expertise comme trop important pour accorder une confiance à la VTR [US EPA, 2002]. En règle générale, les scientifiques s'accordent pour dire qu'une VTR peut être construite s'il y a assez d'éléments pour que l'UF global ne soit pas supérieur à 3000 pour une exposition respiratoire et 10000 pour une exposition orale, ce qui se vérifie lors de la consultation des bases de données VTR. Ces différences de valeurs sont liées à la prise en compte, lors de la construction d'une VTR par inhalation, d'une concentration équivalente humaine ramenant le plus souvent l'UF_A à 3 (toxicodynamie).

6.2.1. Les facteurs proposés dans les ouvrages de référence

6.2.1.1. *Facteurs d'incertitude lié à la variabilité inter-espèces*

En théorie

Le facteur d'incertitude inter-espèces, nommé UF_A, est appliqué lorsqu'une étude animale est utilisée pour construire la VTR. Il est destiné à prendre en compte les différences de toxicocinétique et de toxicodynamie entre l'espèce testée et l'homme. Sa valeur maximale utilisée par défaut peut atteindre 10, postulant ainsi que l'homme est plus sensible que l'animal. Historiquement, ce facteur 10 provient de la décomposition du facteur de sécurité de 100 qui était utilisé dans le domaine de la sécurité alimentaire [Lehman and Fitzhugh 1952]. Par la suite ce facteur a été décomposé en deux (10×10) afin de tenir compte des transpositions inter et intra-espèces [FAO 1965 ; Barnes and Dourson 1988]. La valeur de 10 utilisée actuellement correspond à l'application de 2 composantes de 4 ($10^{0,6}$) et 2,5 ($10^{0,4}$) ou de 3,16 ($10^{0,5}$) et 3,16 ($10^{0,5}$) respectivement pour les différences de toxicocinétique et de toxicodynamie. Ces deux composantes ont été proposées au début des années quatre-vingt-dix pour permettre de séparer les considérations toxicocinétiques et dynamiques afin de les étudier séparément lorsque des données sont disponibles pour l'une ou l'autre [IPCS, 1994]. Le choix de ces composantes a récemment fait l'objet d'un document publié par l'OMS [WHO, 2005].

Les analyses effectuées sur la variabilité des métabolismes et de l'excrétion des xénobiotiques indiquent que la valeur 4 ($10^{0,6}$) utilisée par défaut pour la composante toxicocinétique couvrirait une bonne partie de la population générale adulte pour les voies métaboliques les plus renseignées [Renwick 1993]. Pour la voie orale, plusieurs études mentionnent que la transposition entre espèces des doses administrées serait proportionnelle à la surface corporelle, elle-même corrélée au poids corporel (rapport des poids moyens à la puissance ⅔) [Mahmood 1999 ; Rhomberg and Lewandowski 2006]. Cela sous-entend que les différentes espèces auraient la même sensibilité à une dose donnée par unité de surface corporelle. L'OMS ou l'US EPA considèrent que lorsque l'ajustement des surfaces corporelles est réalisé, la valeur par défaut de 10 du facteur d'incertitude UF_A peut être réduite à 3. Toutefois, les scientifiques ne semblent pas d'accord sur la prise en compte de cet élément. Le JECFA et le JMPR estiment que le métabolisme des substances toxiques ne présente pas nécessairement une bonne corrélation avec le métabolisme général de l'organisme, reflétés par le poids et la surface corporels, et que la conversion des surfaces corporelles n'est pas suffisamment étayée par des résultats expérimentaux. Ainsi, une importance particulière doit être accordée au jugement d'expert lors du choix de ce facteur d'incertitude.

Pour la voie respiratoire, un ajustement dosimétrique fondé sur des paramètres physico-chimiques et biologiques (flux sanguins, coefficient de partage, *etc.*) peut être réalisé si les connaissances sont suffisantes, permettant également de réduire au maximum la part toxicocinétique de l'UF_A [US EPA 1994]. En pratique, l'US EPA propose un UF_A de 3 lorsqu'un ajustement dosimétrique est réalisé.

Si l'ensemble de la communauté scientifique ne retient pas les mêmes hypothèses lors de l'application de l'UF_A, il semble qu'elle s'accorde sur la valeur 10 utilisée par défaut et sur les deux composantes, toxicocinétique et dynamique. Théoriquement, les valeurs possibles de l'UF_A sont étayées par les éléments du tableau VIII.

Tableau VIII : Valeurs d'UF_A proposées en théorie dans les documents guides

UF_A		**Valeur numérique**
Composante toxicocinétique	Si absence de données	3 ou 4
	Si une partie de la toxicocinétique identique (absorption, distribution, élimination, *etc*.)	]1- 3 ou 4[
	Si l'ensemble de la toxicocinétique sensiblement la même ou si coefficient d'ajustement de doses utilisé	1
	Si la toxicocinétique montre que les concentrations à la cible sont inférieures chez l'homme	<1
	Si modèle PBPK renseigné	–*
	Si utilisation d'une étude humaine	–*
Composante toxicodynamique	Si absence de donnée	2,5 ou 3
	Si la toxicodynamie est identique	1
	Si homme moins sensible	<1
	Si utilisation d'une étude humaine	–*

* – : facteur d'incertitude non appliqué

<u>En pratique</u>

La pratique des organismes élaborant des VTR a été évaluée au travers des bases de données et documents disponibles sur Internet, telles que celles de l'US EPA, l'ATSDR, Santé Canada, *etc*.

Il est rare que le facteur d'incertitude UF_A soit inférieur à 1, bien que cela soit précisé comme possible dans les ouvrages de référence, et même si l'homme est considéré comme moins sensible que l'animal. Un exemple *a contrario* a été identifié, dans la construction de la VTR de l'éthylène glycol butyl éther (EGBE) fondée sur des effets hématologiques (hémolyse), où l'UF_A utilisé par Santé Canada est égal à 0,5 alors que celui utilisé par l'US EPA est égal à 1, en dépit du fait que les éléments de toxicologie discutés par ces deux organismes étaient strictement les mêmes (les études *in vitro* ont montré que les hématies humaines étaient moins sensibles à l'action de l'EGBE que les hématies de rat).

Pour les VTR construites avant les années quatre-vingt-dix, la valeur de l'UF_A était très souvent égale à 10. Actuellement, l'évolution de sa valeur diffère selon les pratiques des organismes : l'US EPA tend à réduire le facteur d'incertitude UF_A lorsque des informations toxicocinétiques et/ou toxicodynamiques sont prises en compte, mais la règle théorique n'est que rarement suivie. Par exemple, pour l'acétate de vinyle, un ajustement dosimétrique a été appliqué en 1990 pour transformer une concentration chez l'animal en concentration équivalente humaine et l'UF_A a été réduit à 3 ($10^{0,5}$). Pour la même construction et la même concentration équivalente humaine, l'ATSDR a utilisé un UF_A de 10. Le même raisonnement (UF_A réduit à 3 après calcul d'une

concentration équivalente humaine) a été appliqué à la méthylisobutylcétone, au cyclohexane et au sulfure d'hydrogène pour les VTR par inhalation de l'US EPA.

Lorsqu'un modèle PBPK est disponible, ce qui est encore rare, le facteur est égal à 1 ou 3 en fonction des données de toxicodynamie disponibles : pour le chlorure de vinyle, l'US EPA applique un UF_A égal à 3 car les données de toxicodynamie ne sont pas suffisamment renseignées ; alors que pour l'EGBE, l'UF_A appliqué par l'US EPA est égal à 1 car les études *in vitro* montrent que l'homme est moins sensible que l'animal pour l'effet considéré.

Finalement, il est encore aujourd'hui fréquent que l'UF_A soit égal à 10 (cf bases de données). En résumé, les valeurs de l'UF_A utilisées en pratique sont étayées par les éléments du tableau IX.

Tableau IX : Valeurs d'UF_A utilisées en pratique

UF_A		**Valeur numérique le plus souvent utilisée**
Composante Toxicocinétique	Si absence de données	3
	Si une partie de la toxicocinétique est identique (absorption, distribution, élimination, *etc.*)	1 à 3
	Si l'ensemble de la toxicocinétique est sensiblement la même ou si coefficient d'ajustement de doses utilisé	1
	Si modèle PBPK renseigné	1
	Si utilisation d'une étude humaine	–*
Composante Toxicodynamique	Si absence de donnée	3
	Si la toxicodynamie est identique	1
	Si homme moins sensible	1
	Si utilisation d'une étude humaine	–*

*– facteur d'incertitude non appliqué

6.2.1.2. *Facteur d'incertitude lié à la variabilité inter-individuelle*

<u>En théorie</u>

Le facteur tenant compte de la variabilité inter-individuelle est appliqué pour prendre en compte la variation de sensibilité dans l'ensemble de la population humaine lorsque l'étude a été réalisée sur un groupe restreint (comme par exemple dans le cas d'une étude réalisée en milieu professionnel) ou sur l'animal de laboratoire, dont la variabilité inter-individuelle est réduite. Ce facteur devrait permettre de tenir compte des populations sensibles (enfants, personnes âgées, femmes enceintes, etc.) et des différences de réponses toxicocinétiques (polymorphismes dans les enzymes du métabolisme par exemple) ou toxicodynamiques (sensibilités différentes au niveau de la cible, par exemple différence de nombre de récepteurs), sans pour autant viser les sujets les plus sensibles (notion de sujets hypersensibles).

Quand les études proviennent d'expérimentations animales, cette variabilité n'est pas détectée en raison d'échantillons de petite taille et à la représentativité limitée. Historiquement, le facteur de 10 a été justifié au moyen d'une analyse des relations dose – effet issues d'un nombre important d'expériences de létalité aiguë chez l'animal (DL50), qui a montré que dans 92 % des cas, ce facteur

prenait en compte les individus les plus sensibles dans les expérimentations [Dourson and Stara 1983]. Toutefois, l'homogénéité génétique, la stabilité des conditions de vie et l'absence de maladie particulière chez les animaux de laboratoire ne reflètent qu'une très faible variation d'effets d'un individu à l'autre, par rapport à ce qui se passe chez l'homme : hétérogénéité génétique, modes de vie très différents d'une sous population à l'autre, facteurs de risque associés, présence de pathologies particulières, états hormonaux hétérogènes, présence de sous groupes sensibles, *etc.* Ce facteur de 10 est donc très théorique.

Les études réalisées chez l'homme l'ont été majoritairement pour les paramètres toxicocinétiques (devenir de la substance dans l'organisme), chez des adultes sains, issus de l'analyse des données cliniques sur les médicaments. Calabrese indiquent que le facteur 10 serait suffisant pour couvrir 80 à 95 % de la population humaine [Calabrese 1978, 1985, cité dans Thuret 2004]. Hattis et ses collaborateurs, qui ont analysé la variabilité de différents paramètres toxicocinétiques (AUC, demi-vies, concentrations plasmatiques, *etc.*) chez les adultes sains, indiquent que pour la médiane des substances étudiées, un facteur 10 correspondrait à 7 à 9 déviations standards dans la population adulte saine [Hattis *et al.* 1987]. Les équipes de Kalberlah et de Renwick ont montré que les facteurs de 10 et de 4,5 couvriraient respectivement plus de 99 % ou 95 % de la population adulte saine [Kalberlah and Schneider 1998 ; Renwick and Lazarus 1998]. D'après ces études, un facteur de 10 couvrirait donc les différences toxicocinétiques au sein d'une population adulte saine mais pas celles liées aux mécanismes toxiques, ni aux statuts variés [KEMI, 2003].

Plus tard, Renwick étudiait la variabilité toxicocinétique et la variabilité toxicodynamique de manière séparée, à l'aide de plusieurs études réalisées chez l'adulte sain. Il montrait que les différences toxicocinétiques étaient généralement plus importantes que les différences toxicodynamiques et qu'un facteur de 4 était suffisant pour prendre en compte la variabilité toxicocinétique de 99 % des individus adultes sains dans 80 % des substances étudiées. Ainsi, il proposait des facteurs de 4 et de 2,5 couvrant respectivement les différences de toxicocinétique et de toxicodynamie dans la population adulte saine [Renwick 1991]. A la suite, l'OMS proposait un facteur de 3,16 pour la part toxicocinétique (polymorphisme génétique sur les enzymes, différences de clairance liées à des différences physiologiques, *etc.*) et un facteur 3,16 pour la part toxicodynamique (différences de sensibilité à la cible, par exemple pour l'affinité à un récepteur), en précisant que les données n'étaient pas suffisantes pour identifier deux sous facteurs différents [IPCS, 1994].

Kalberlah et Schneider proposaient en 1998 un facteur inter-individuel de 25, composé d'un facteur pour la toxicocinétique de 8 et d'un facteur pour la toxicodynamie de 3. Le facteur de 8 pour la toxicocinétique était lui-même fondé sur un facteur de 5 issus des analyses de Hattis *et al*. (1987) et de Renwick (1991) et un facteur de 3 prenant en compte les polymorphismes enzymatiques. Selon les auteurs, ces paramètres toxicocinétiques étant dépendants, le résultat s'exprimait par une somme (5+3=8). Pour le facteur global, la toxicocinétique et la toxicodynamie étant indépendantes l'une de l'autre, ils proposaient de l'exprimer comme le produit des deux sous-facteurs ($4\times8=24$).

Enfin, ils précisaient qu'il n'était pas nécessaire de considérer les enfants ou les personnes âgées comme plus sensibles, bien que dans certains cas, les enfants pouvaient montrer des sensibilités plus grandes. Pour les personnes âgées, ils précisaient que les informations étaient insuffisantes pour conclure sur cette sensibilité particulière.

D'autres études [Renwick *et al.* 2000a, 2000b ; Dorne *et al.* 2001, 2002 ; Walton *et al.* 2001] ont ensuite évalué la validité du facteur de 3,16 proposé par l'OMS pour les différences toxicocinétiques, en utilisant des données humaines sur la cinétique de certains médicaments métabolisés par le cytochrome P450 1A2. Leurs conclusions étaient que si 99 % de la population adulte saine était couverte par ce facteur, il ne s'appliquait pas aux femmes enceintes, aux personnes âgées, aux enfants ou encore aux patients atteints de maladies hépatiques. Par ailleurs, il était totalement inadapté pour les nouveaux-nés (99 à 100 % des individus non couverts) et pour les femmes enceintes à terme (50 % non couverts). Les auteurs proposaient l'application d'un facteur supplémentaire pour les substances substrats du cytochrome P450 1A2 lorsque les populations cibles étaient les nouveaux-nés. De même pour les substances métabolisées par le cytochrome P450 2D6, ils précisaient que pour couvrir 95 à 99 % des individus métaboliseurs rapides, métaboliseurs lents, des personnes âgées et des enfants, les facteurs variaient respectivement de 2,6 à 4,1, de 15 à 18, de 5 à 8,4 et de 22 à 45. Enfin, les analyses effectuées sur les variations dans la glucuronidation ont montré des différences moindres, puisque le facteur 3,16 couvrirait 99 % de la population générale, excepté les nouveaux-nés et les individus atteints de pathologies hépatiques ou rénales.

Enfin, le KEMI (Swedish Chemical Inspectorate) a proposé en 2003 une série de facteurs influençant les différences de sensibilité d'un individu à l'autre, avec des valeurs numériques associées. Ainsi, il a déterminé que l'âge, le polymorphisme génétique, le genre, les pathologies et le mode de vie influaient de manière significative sur la sensibilité des individus. Pour l'âge, il propose un facteur de 1 à 10 si les enfants sont une population à prendre en compte et notamment si la substance étudiée est connue pour avoir comme organe cible un organe ou un système en développement chez l'enfant (systèmes nerveux, immunitaire, de la reproduction et endocrine). Pour le polymorphisme génétique, qui peut influer sur la toxicocinétique (polymorphisme des cytochromes P450) et sur la toxicodynamie (maladie héréditaire entraînant une déficience des réparations de l'ADN), il est extrêmement difficile de connaître l'amplitude du facteur génétique influant sur les différences de sensibilités. Pour la prise en compte des modes de vie ou des pathologies, la diversité des possibilités ne permet pas non plus de proposer un facteur particulier. Les experts doivent juger ou non de la pertinence de l'application de la VTR aux populations sensibles en fonction de l'organe cible et de la pathologie identifiée, ainsi qu'en fonction des modes de vie identifiés. De ce fait, le KEMI propose qu'un facteur UF_H de 3 à 5 pour la toxicocinétique soit utilisé pour tenir compte de la variabilité de sensibilité dans la population adulte saine et que le facteur UF_H de 3,2 pour la toxicodynamie soit gardé car les connaissances ne sont pas suffisantes pour proposer une

alternative solide à cette valeur. En conclusion, il propose l'application d'un facteur UF_H de 10 à 16 comme minimum requis pour la construction d'une VTR à seuil, en précisant qu'il ne couvre pas l'ensemble des sous populations identifiées comme à risque. Par ailleurs, compte tenu du manque de connaissance lié aux facteurs génétiques, aux modes de vie ou aux pathologies, il est impossible de proposer une valeur par défaut qui tiendrait compte de ces éléments. Il est donc important d'avoir recours à un jugement d'expert qualitatif au cas par cas, en fonction du type d'effet étudié, du mécanisme de la substance et du type d'exposition.

Le KEMI précise enfin qu'une attention toute particulière doit être portée aux périodes critiques d'exposition où la susceptibilité des individus peut être exacerbée, à savoir au moment de la conception, pendant les périodes pré- et post-natales, l'enfance et l'adolescence, ainsi que pendant la grossesse. Il insiste sur la nécessité de conduire des expérimentations animales représentatives des expositions pendant la petite enfance (étude chez les animaux jeunes) [KEMI, 2003].

En pratique

Les aspects théoriques sont ici souvent respectés en pratique (tableau X). La plupart du temps, l'UF_H est égal à 10. En effet, les VTR sont fréquemment issues d'études animales et, dans ce cas, étant donné que la variabilité inter-espèces dans les lots d'animaux testés est limitée, le facteur 10 est toujours appliqué. Lorsque des données utilisées sont humaines, elles sont fréquemment d'origine professionnelle et le facteur 10 est dans ce cas le plus souvent respecté pour prendre en compte les populations sensibles.

Pour quelques substances, les données proviennent d'études chez des groupes d'individus sensibles (par exemple, chez des asthmatiques, quand on observe les effets sur la fonction respiratoire) et, dans ce cas, le facteur est souvent réduit (3 ou 1).

En pratique, les éléments de discussion plus récents présentés plus haut sur la sensibilité de groupes d'individus particuliers ne sont pas appliqués actuellement pour construire les VTR.

Tableau X : Valeurs d'UF_H proposées dans les documents guides et utilisées en pratique

UF_H		Valeur numérique
Composante TK	Si absence de données	3
	Si utilisation d'une étude réalisée sur le groupe sensible chez l'homme (fonction de l'effet)	1
Composante TD	Si absence de donnée	3
	Si utilisation d'une étude réalisée sur le groupe sensible chez l'homme (fonction de l'effet)	1

6.2.1.3. Facteur d'incertitude lié à l'usage d'un LOAEL ou d'une BMD / BMC

En théorie

Pour les effets toxiques considérés comme survenant au-delà d'un seuil de dose, la VTR correspond théoriquement à une dose d'innocuité : une exposition à la substance dangereuse ne dépassant pas cette valeur n'est pas censée produire d'effet dans la population exposée.

Ce facteur d'incertitude est appliqué lorsque la VTR est construite à partir d'un LOAEL. Actuellement, il peut également être utilisé lorsqu'une BMD ou une BMDL est appliquée. Il est issu de l'étude de ratios LOAEL / NOAEL déterminés pour différentes substances sur différents modèles animaux. L'ECETOC, en 1995, recommande d'utiliser dans la majorité des cas un facteur 3, valeur correspondant à une moyenne approximative des données existantes. Néanmoins, cette valeur ne peut être considérée comme protectrice, puisque dans 50 % des cas environ, un ratio LOAEL / NOAEL supérieur peut être observé [ECETOC, 1995].

En pratique

Le facteur utilisé lors de l'utilisation d'un LOAEL est le plus souvent de 3 ou 10, mais peu de justification est donnée quant au choix de l'une ou l'autre de ces valeurs. Elle est laissée au jugement d'expert, selon les cas, en fonction du type d'effet, ainsi que de l'aspect de la relation dose – réponse.

Pour le facteur utilisé lors de l'utilisation d'une BMD / BMDL, il est le plus souvent égal à 1. Il est parfois égal à 3 ou à 10, mais peu de justification est donnée quant à l'application de ces valeurs. D'ailleurs, l'exploitation des bases de données de l'US EPA et de l'ATSDR par le groupe de travail a montré qu'en pratique, il n'y avait pas de règle spécifique pour le choix de la valeur numérique de ce facteur : l'ATSDR a utilisé une valeur de 1 pour l'ensemble des 8 VTR construites sur la base d'une BMDL. L'US EPA, qui a construit 30 VTR à partir de BMDL, a utilisé la valeur de UF_B de 1 pour 13 RfD et 13 RfC, la valeur de UF_B de 3 pour 1 RfD et 2 RfC et la valeur de UF_B de 10 pour 1 RfC, sans qu'une règle d'utilisation claire soit dégagée de cette utilisation (étude par rapport à la sévérité de l'effet, au type de données quantales ou continues, au pourcentage de la réponse, *etc.*).

6.2.1.4. Facteur d'incertitude lié à une transposition subchronique à chronique

En théorie

Le facteur d'incertitude lié à une transposition de durée subchronique à chronique est appliqué lorsque la dose critique utilisée a été déterminée à partir d'une étude subchronique (90 jours chez les rongeurs) et que la VTR s'applique pour des expositions chroniques (ce qui est souvent le cas lors de l'étude de la toxicité générale). L'application de ce facteur suppose qu'un effet observé lors

d'expositions subchroniques le sera aussi pour des expositions chroniques, à plus faible dose. Il peut également être utilisé lorsque l'incidence ou la sévérité de l'effet augmente avec la durée d'exposition.

En pratique

Ce facteur prend généralement les valeurs de 3 ou de 10. Il n'y a pas de justification concrète à l'application de l'une ou l'autre des valeurs. Cette application est donc laissée au jugement d'expert, en fonction des cas.

> A noter que certains organismes (tel que l'US EPA) appliquent un ajustement supplémentaire à la concentration critique obtenue lorsque les études sont réalisées par inhalation chez l'animal, afin de tenir compte des différences de durée d'exposition entre l'animal de laboratoire (qui est généralement exposé de 4 à 8 heures par jour) et l'homme, dans des circonstances d'expositions environnementales (exposé 24 heures sur 24, 7 jours sur 7) [US EPA 1994]. L'application de ce facteur d'ajustement est issue de la loi de Haber [Haber 1924] qui, sous une forme simplifiée, exprime que le produit de la concentration par le temps conduit à une constante en terme de toxicité. Cependant, cette équation correspond à un cas particulier de la relation plus générale $C \times t^m = K$, ou m = 1. De plus certains auteurs émettent des réserves quant à sa validité pour tous les types de substances [Bunce and Remillard 2003].

6.2.1.5. Autres facteurs d'incertitude

En théorie

Ces facteurs d'incertitude sont soit lié à l'insuffisance de données, soit lié à la sévérité de l'effet critique et n'est pas systématiquement utilisé.

Dans le premier cas, il tient compte de la confiance que l'on peut accorder aux études toxicologiques, notamment quand celles-ci ne sont pas suffisamment nombreuses ou qu'il manque l'analyse d'un type d'effet. Il n'est donc pas le reflet d'une variabilité, mais d'un manque de connaissances. Il s'agit donc d'un facteur de prudence utilisé lorsque les données toxicologiques sont incomplètes.

Dans le second cas, il recouvre la prise en compte de la sévérité de l'effet critique. C'est plus sur cet aspect, que sur le manque de connaissances, que ce facteur est appliqué en pratique.

En pratique

Lorsqu'ils sont employés, ces facteurs est généralement compris entre 3 et 10, mais aucune règle ne fixe la valeur à appliquer en fonction des données. Par exemple, pour le DEHP, Santé Canada ajoute un facteur 10 pour tenir compte de la sévérité de l'effet (développement), alors que l'ATSDR,

pour un effet sur la reproduction, n'en propose pas. De même, pour les effets neurotoxiques du plomb, l'OEHHA propose un facteur 3 alors que le JECFA n'en propose pas.

6.2.2. Recommandations pour les facteurs d'incertitude à appliquer

6.2.2.1. Facteurs d'incertitude lié à la variabilité inter-espèces

Etant donné que la plupart des organismes sont actuellement d'accord pour prendre en compte les composantes toxicocinétique et toxicodynamique, **les éléments présentés au chapitre 6.2.1.1 seront utilisés pour la construction d'une VTR reprotoxique**.

6.2.2.2. Facteur d'incertitude lié à la variabilité inter-individuelle

Dans le cas des substances reprotoxiques, il n'est actuellement pas possible d'avoir une idée précise de la différence de sensibilité des populations. **Il est donc recommandé d'utiliser la valeur par défaut de 10 pour le facteur d'incertitude intra-espèce.**

Notons que, comme l'a fait remarqué le KEMI, compte tenu du manque de connaissance lié aux facteurs génétiques, aux modes de vie ou aux pathologies, il est impossible de proposer une valeur par défaut qui tiendrait compte de ces éléments. Il est donc important d'avoir recours à un jugement d'expert qualitatif au cas par cas, en fonction du type d'effet étudié, du mécanisme de la substance et du type d'exposition.

6.2.2.3. Facteur d'incertitude lié à l'usage d'un LOAEL ou d'une BMD / BMC

On doit en premier lieu se poser la question de la pertinence d'un LOAEL isolé, car LOAEL et NOAEL sont théoriquement déterminés simultanément sauf si le LOAEL correspond à la première dose testée non nulle de l'expérimentation. **Dans ce cas de figure, le protocole expérimental ne peut être considéré comme pertinent et le LOAEL issu d'une telle expérience ne devrait pas être accepté pour la construction d'une VTR**. **La pratique montre cependant que, parfois, des exceptions peuvent exister en fonction des données (annexe 2). Pour la construction d'une VTR reprotoxique, le facteur UF_L ne s'appliquera qu'au cas par cas, dans des conditions spécifiques dont il faudra discuter de manière collégiale.**

Etant donné que la BMD n'est explicitement pas une dose sans effet, il parait nécessaire de conserver un UF pour transformer la BMD / BMDL en « dose sans effet théorique ». Il s'agit ici d'un facteur de précaution. Le facteur proposé (UF_B) dépend de la BMR retenue. D'après la littérature, il semble que le NOAEL soit généralement encadré par la $BMD_{10}L_{95}$ et la $BMD_{05}L_{95}$. Il ne faut donc pas surestimer la valeur du facteur. **Une valeur de 3 sera retenue lorsqu'une $BMD_{10}L_{95}$ sera utilisée et une valeur de 1 sera retenue lorsqu'une $BMD_{05}L_{95}$ sera utilisée.**

Compte tenu du recul insuffisant concernant ce facteur d'incertitude, il sera important, à l'issue des expériences menées, de le ré-évaluer, notamment dans les cas où la valeur du ratio « $BMD_{10}L_{95}$ / 3 » est inférieure à la valeur « $BMD_{05}L_{95}$ ».

Un facteur d'incertitude doit également être envisagé dans le cas où une VTR serait construite à partir d'une BMD (et non d'une BMDL). Cette situation peut se produire si l'incertitude associée à l'estimation de cette BMD est importante et conduit à une valeur de BMDL de plusieurs ordres de grandeur inférieure à la BMD. Dans ce cas l'utilisation de la BMDL apparaît irréaliste, mais la BMD n'est pas nécessairement à rejeter face à un LOAEL par exemple. Un facteur de 10 pourrait être proposé dans ce cas.

6.2.2.4. Facteur d'incertitude lié à une transposition subchronique à chronique

Dans le cas des effets sur la reproduction et le développement, l'application d'un UF_S ne peut vraisemblablement pas se présenter car les études jugées pertinentes pour être exploitées pour la construction d'une VTR sont les études spécifiques à la reproduction et au développement. Pour les effets sur le développement, l'exposition n'est jamais chronique et la VTR ne le sera pas. Pour les effets sur la reproduction, les expositions dans les études expérimentales peuvent être chroniques (études sur une ou deux générations), **les VTR pourront donc *a priori* être construites sur cette base. Dans le cas où l'application d'un UF_S serait pertinente, c'est une discussion collégiale qui permettra de statuer au cas par cas en fonction des données.**

6.2.2.5. Autres facteurs d'incertitude

L'absence de données permettant de faire une évaluation complète de la reprotoxicité (absence d'étude sur plusieurs espèces, absence d'étude multigénérationnelle,…) fragilise les conclusions et un UF pour l'insuffisance des données pourrait être envisagé. Par ailleurs, on pourrait également faire preuve de prudence lorsqu'est étudié le cas des mélanges complexes de familles de substances (HAP, PCB, dioxines, *etc.*). Finalement, ce facteur d'incertitude serait applicable dans certains cas, mais qui sont difficiles à définir préalablement. **Cet UF_D sera appliqué au cas par cas. Les valeurs les plus courantes devraient être de 3 ou de 10 en fonction des données disponibles.**

Concernant la sévérité de l'effet, il n'est pas possible de déterminer *a priori* la similitude de cette sévérité entre l'animal et l'homme (on retient habituellement tout type d'effet reprotoxique montré chez l'animal). La sévérité de l'effet ne sera donc pas considérée dans l'application des UF.

6.2.2.6. Bilan des UF

Finalement, pour la construction de la VTR reprotoxique, les facteurs d'incertitude suivants seront appliqués à la dose critique retenue :

- **un facteur pour la transposition inter-espèces UF_A (valeur variable selon les données), tenant compte de la variabilité existant d'une espèce à l'autre dans la réponse biologique ultime ;**
- **un facteur inter-individuel UF_H de 10 correspondant à la variabilité au sein d'une même espèce ;**
- **un facteur UF_B tenant compte de l'utilisation d'une BMDL, de 1 ou de 3 en fonction du type de BMDL calculée, de 10 dans le cas d'une BMD ou dans certains cas un facteur UF_L ;**
- **un facteur UF_D, tenant compte de l'exhaustivité des données toxicologiques et de la quantité des informations disponibles, dont l'application sera également proposée au cas par cas.**

Enfin, au cas par cas, un facteur UF_S pourra être envisagé et sa valeur sera appréciée au regard des données toxicologiques.

Les valeurs de ces facteurs seront appliquées selon les éléments du tableau XI.

Tableau XI : Valeurs des facteurs d'incertitude à appliquer pour la construction de la VTR reprotoxique

Acronyme	Interprétation des UF			Valeurs des UF
UF_A	Variabilité inter espèces	Composante toxicocinétique	Si absence de donnée	3
			Si une partie de la toxicocinétique est identique	1 à 3
			Si l'ensemble de la toxicocinétique est sensiblement la même ou si utilisation d'un coefficient d'ajustement de doses	1 à 3
			Si modèle PBPK renseigné	1
			Si utilisation d'une étude humaine	–
		Composante toxicodynamique	Si absence de données	3
			Si toxicodynamie identique	1
			Si homme moins sensible	1
			Si utilisation d'une étude humaine	–
UF_H	Variabilité inter individuelle	Composante toxicocinétique		3
		Composante toxicodynamique		3
$UF_{B/L}$	Utilisation d'une BMDL / BMDL ou d'un *LOAEL*			1, 3 ou 10 au cas par cas
UF_D	Insuffisance des données (en qualité et en quantité)			1, 3 ou 10
UFS	Transposition subchronique à chronique			Cas par cas

Les facteurs d'incertitude seront appliqués en fonction du type de données utilisées (animales ou humaines), des connaissances disponibles sur la toxicocinétique et la toxicodynamie, et en fonction de la nature des données utilisées.

Cette étape nécessite obligatoirement une discussion collégiale et un débat contradictoire sur la nature et les valeurs des facteurs d'incertitude à appliquer, sur la base de la méthode proposée. Ces choix devront être justifiés et rédigés clairement.

Enfin, les VTR produites seront présentées d'une manière synthétique sous forme d'un tableau, accompagnées d'une discussion sur les incertitudes qui leur sont associées et sur la confiance que l'on peut leur accorder. L'ensemble des hypothèses doit être décrit afin de discuter en toute transparence de la qualité de la VTR.

CONCLUSION

Ce document rassemble l'ensemble des éléments méthodologiques nécessaires à l'élaboration d'une VTR reprotoxique et notamment ceux liés aux choix qui sont effectués pour cette construction. Ainsi, la première partie regroupant les chapitres 1 à 4 rappelle les postulats fondamentaux pour la construction d'une VTR reprotoxique ; elle permet d'aider au choix des effets néfastes considérés et de l'effet critique reprotoxique à retenir pour la VTR ainsi qu'au choix d'une ou plusieurs études, animales ou humaines, qui seront exploitées. Le chapitre 5 permet de rassembler l'ensemble des éléments nécessaires à la construction de la VTR. Enfin, le chapitre 6, relatif à la méthode d'élaboration même de la VTR, permet d'une part l'identification et la construction des doses repères, et d'autre part l'application des facteurs d'incertitude adéquats, en fonction des données disponibles.

A partir de ces éléments, une VTR reprotoxique peut donc être proposée et argumentée, en accordant toujours une grande importance aux justifications des choix qui sont faits ainsi qu'à la durée et à la période d'exposition sur lesquelles elle s'applique. Ces éléments permettront en dernier lieu de conduire une discussion éclairée reprenant les différentes incertitudes entourant la valeur de la VTR proposée afin d'en avoir une utilisation optimale. Ces discussions d'experts sont indispensables et doivent être réalisées de manière collégiale. Elles pourront conduire à la proposition d'un indice de confiance pour la VTR, reflétant les incertitudes globales (comme le propose par ailleurs l'US EPA dans sa base de données IRIS et le RIVM). Cet indice de confiance tiendra donc compte de la nature et de la qualité des informations toxicologiques et épidémiologiques utilisées pour la construction de la VTR, de l'étendue des connaissances relatives à la substance, de la qualité de la dose critique proposée, ainsi que de la valeur des facteurs d'incertitude appliqués.

PERSPECTIVES DE RECHERCHE

Les travaux du groupe d'experts ont permis d'identifier les éléments nécessaires à la construction de VTR reprotoxiques. Au cours des discussions et réflexions, des insuffisances en terme de connaissances et de méthode ont été soulignées. Quatre thèmes ont été dégagés pouvant correspondre à autant de pistes de recherche qui développées permettraient d'améliorer les pratiques futures :

- le premier sur la problématique des ajustements allométriques dans le cadre de la transposition de l'animal à l'homme : ces facteurs allométriques, explicités dans la première partie du document, n'ont pas été repris dans la méthode proposée, du fait des manques de connaissances pour une application transparente, juste et satisfaisante. Dans le cadre des VTR à seuil, certains organismes utilisent ces facteurs pour la construction de VTR respiratoires, par l'application d'un coefficient dépendant des paramètres physiologiques des individus et physico-chimiques de la substance. Pour la voie orale, si un coefficient est proposé pour les VTR cancérogènes, fondé sur les différences en terme de surface corporelle entre l'animal et l'homme, il n'est pas utilisé pour les VTR à seuil (implicitement compris dans le facteur UF_A). Ces différences de traitement entre VTR sans seuil et VTR à seuil d'une part, et entre VTR orales et respiratoires d'autre part ne sont pas justifiées. La nécessité d'approfondir la compréhension des transpositions animal – homme et du facteur UF_A incite à recommander qu'une réflexion plus poussée soit faite en ce sens. **Le groupe de travail recommande que soit approfondie la notion des doses et concentrations équivalentes humaines, des facteurs allométriques, du UF_A et de leur utilisation dans la construction de VTR ;**

- le second concerne la problématique de l'ajustement des données toxicologiques dans le temps. En effet, dans les études réalisées par inhalation chez l'animal, les individus sont exposés de 4h, à tout au plus 8-10h par jour, 5 jours par semaine. Les doses repères (NOAEL, LOAEL, BMD ou BMDL) sont alors moyennées sur des durées continues afin d'être applicables chez l'homme pour des expositions continues (24h sur 24 et 7 jours sur 7). Cet ajustement, réalisé linéairement en fonction du temps, consiste à utiliser la loi de Haber simplifiée (concentration × temps = constante en terme d'impact toxique). Ces ajustements conduisent à l'application systématique de $NOAEL_{ADJ}$ (pour « *adjusted* ») dont les fondements toxicologiques ne sont pas toujours compris voire opposés au principe d'effet à seuil de dose. **Le groupe de travail recommande qu'une réflexion soit menée pour mieux comprendre les possibilités d'application de tels ajustements ainsi que leur justification scientifique.**

- le troisième concerne le concept de la benchmark dose. Le travail réalisé sur les benchmark doses et les discussions inhérentes nécessitent de poursuivre une discussion sur le paradigme habituel retenu dans l'évaluation des risques. En effet, le choix et l'utilisation de BMD dans la construction de VTR (qui est souvent retenu actuellement au sein de l'US EPA) vont explicitement à l'encontre de la notion habituelle de « dose d'innocuité », bien que, comme évoqué dans ce document, les NOAEL ne soient pas véritablement des doses sans effet. **Le groupe de travail recommande qu'un retour d'expérience sur ce sujet soit mené ;**

- enfin, le quatrième concerne la validité des modèles animaux : en effet, il s'avère qu'au vu de l'ensemble des discussions au sein du groupe de travail « VTR reprotoxiques », les données comparatives sur l'anatomie, la physiologie et la physiopathologie des différents animaux de laboratoire par rapport à l'homme sont dispersées. Ces données sont pourtant connues et ils semblent intéressant à ce stade de réaliser une synthèse sur les différents modèles animaux utilisés en toxicologie (rats, souris, lapins, gerbilles, singes, chiens…), leurs principales caractéristiques, leur spécificité anatomique, *etc.* **Le groupe de travail recommande qu'une synthèse bibliographique soit réalisée. Cela permettrait par ailleurs d'avoir une analyse plus juste des informations recueillies dans le cadre de la construction d'une VTR, en fonction des études et des espèces testées.**

ACCOMPAGNEMENT OPERATIONNEL

A l'issue de ce travail, le groupe d'experts insiste sur l'importance de définir dès à présent les modalités d'accompagnement de la production des VTR reprotoxiques et leur cadre d'utilisation, notamment :

- le processus d'élaboration des VTR construites selon cette méthode : identification des compétences, organisation de l'expertise collective ;
- le processus de validation des VTR : légitimité des instances, critères de validation ;
- la codification et l'indexation de ces VTR, en particulier pour identifier leur origine, voie et durée d'exposition ;
- le mode de diffusion et l'accès aux VTR produites ;
- un processus régulier de révision des VTR déjà produites ;
- un document à l'attention des usagers, qui définit en particulier les conditions d'utilisation de ces VTR : domaine de validité, limites, interprétation ;
- l'évaluation de leur usage par un retour d'expérience.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

▫ Akaike H. **A new look at statistical model identification**. IEEE Transactions on Automatic Control. 1974; AU-19:716-722.

▫ Allen BC, Kavlock RJ, Kimmel CA, Faustman EM, **Dose – response assessment for developmental toxicity. II. Comparison of generic benchmark dose estimates with NOAELs**, Fundamental and Applied Toxicology, 1994, 23: 487-495.

▫ Association des épidémiologistes de langue française (ADELF). **Déontologie et bonnes pratiques en épidémiologie**. Révisions des recommandations de 1998. Proposition du groupe de travail *ad hoc* de l'ADELF. Décembre 2003.

▫ Barnes DG and Dourson M. **Reference dose (RfD): description and use in health risk assessments**. Regulatiry Toxicology and Pharmacology. 1988;8:471-486.

▫ Bunce NJ, Remillard RBJ. **Haber's rule: the search for quantitative relationships in toxicology**. Human and Ecological Risk Assessment. 2003;9(4):973-985.

▫ Cal-EPA. DPR MT-1, 2004a. **Guidance for Benchmark Dose (BMD) Approach – Quantal Data**. Medical Toxicology Branch, Department of Pesticide Regulation, California Environmental Protection Agency, Sacramento, CA.

▫ Cal-EPA. DPR MT-2, 2004b. **Guidance for Benchmark Dose (BMD) Approach – Continuous Data**. Medical Toxicology Branch, Department of Pesticide Regulation, California Environmental Protection Agency, Sacramento, CA.

▫ Calabrese EJ. **Pollutants and high risk groups**. John Whiley and Sons. New York. 1978.

▫ Calabrese EJ. **Uncertianty factors of interindividual variation**. Regulatory Toxicology and Pharmacology. 1985;5(2):190-196.

▫ Chen JJ and Kodell RL. **Quantitative risk assessment for teratologic effects**. J. Am. Stat. Assoc. 1989;84:966-971.

▫ Chen JJ et al. **Analysis of trinomial responses from reproductive and developmental toxicity experiments**. Biometrics. 1991;47:1049-1058.

▫ Commonwealth of Australia. Department of Health and Ageing and enHealth Council**. Environmental health risk assessment, Guidelines for assessing human health risks from environmental hazards**. June, 2002. http://www.health.gov.au/

▫ Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France (CSHPF). **Les éthers de glycol dans les produits de consommation et la santé. Rapport du groupe d'experts.** CSHPF. Section des Milieux de vie. 2002.

▫ Crump KS and Howe RB. **A review of methods for calculating statistical confidence limits in low dose extrapolation**. In Toxicological Risk Assessment. Volume I. Biological and Statistical Criteria. Edtiors: Clayson DB, Krewski D and Munro I. CRC Press Canada, 1985.

▫ Crump KS. **Calculation of benchmark doses from continuous data.** Risk Analysis. 1995;15:79-89.

▫ Crump K. **Critical Issues in Benchmark Calculations from Continuous Data**. Critical Reviews in Toxicology. 2002;32(3):133-153.

▫ Doe JE. **Ethylene glycol monoethyl ether and ethylene glycol monoethyl ether acetate teratology studies**. Environmental Health Perspectives. 1984. 57:33-41.

▫ Dorne JL, Walton K, Slob W, Renwick AJ. **Human variability in polymorphic CYP2D6 metabolism: is the kinetic default uncertainty factor adequate?** Food and chemical toxicology. 2002;40(11):1633-1656.

▫ Dorne JL, Walton K, Renwick AG. **Uncertainty factors for chemical risk assessment. human variability in the pharmacokinetics of CYP1A2 probe substrates.** Food and Chemical Toxicology. 2001;39(7):681-696.

▫ Dourson ML, Stara JF. **Regulatory history and experimental support of uncertainty (safety) factors**. Regulatory Toxicology and Pharmacology. 1983;3(3):224-238.

▫ European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals (ECETOC). **Reproductive and General Toxicology of Some Inorganic Borates and Risk Assessment for Human Beings**. Technical Report N°63. Brussels, February 1995.

▫ European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals (ECETOC). **Recognition of, and differentiation between, nefaste and non-nefaste effects in toxicology studies.** Technical Report n°85, Brussels, December 2002. ISSN-0773-634 7-85. 56p.

▫ European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals (ECETOC). **Guidance on evaluation of reproductive toxicity data.** Monograph n°31, Brussels, February 2002. ISSN-0773 -6347-31. 141p.

▫ European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals (ECETOC). **Derivation of assessment factors for human health risk assessment.** Technical Report n°86, Brussels, February 2003. ISSN-0773-6347-86. 86p.

▫ European Commission. **Council Directive 67/548/EEC** of 27 June 1967 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions relating to the classification, packaging and labelling of dangerous substances. Official Journal of the European Communities 196, 16.8.1967, p. 1.

▫ European Commission. **Council Directive 91/414/EEC** of 15 July 1991 concerning the placing of plant protection products on the market. Official Journal of the European Communities L230, 19.8.1991, p. 1.

▫ European Commission. DG SANCO. **Draft Guidance Document. Guidance for the setting of acceptable operator exposure levels (AOELs).** September, 2001. 16 p.

▫ Food and Agriculture Organization (FAO). **Evaluation of the toxicity of pesticide residues in food**. Joint report of the FAO working party on pesticide residues and the WHO Expert Committee on Pesticide Residues. 1965. FAO Meeting Report PL/1965/12, Rome.

▫ Filipsson AF, Sand S, Nilsson J, and Victorin K. **The benchmark dose method – review of available models, and recommendations for application in health risk assessment**. Critical Reviews in Toxicology. 2003;33(5):502-542.

▫ Fung K, Marro L, Krewski D. **A Comparison of Methods for Estimating the Benchmark Dose Based on Overdispersed Data from Developmental Toxicity Studies**. Risk Analysis. 1998;18(3):329-342.

▫ Gaylor D, Ryan L, Krewski D, Zhu Y. **Procedures for Calculating Benchmark Doses for Health Risk Assessment**. Regulatory Toxicology and Pharmacology. 1998;28:150-164.

▫ Gaylor DW. **An evaluation of benchmark dose methodology for non-cancer continuous-data health effects in animals due to exposures to dioxin (TCDD).** Regulatory Toxicology and Pharmacology. 2004;40:9-17.

▫ Haber F. **Zur Geschichte des Gaskrieges**. In *Fuenf Vortraege aus den Jarhen 1920 – 1923*. Julius Springer. Berlin. 1924.

▫ Hattis B, Erdreich L, Ballew M. **Human variability in susceptibility to toxic chemicals – a preliminary analysis of pharmacokinetic data from normal volunteers**. Risk analysis. 1987;7(4):415-426.

▫ Hill Bradford. **The environment of disease: association or causation?** Proc. R. Soc. Med, 1965, 58:295-300.

▫ Institute for Environment and Health (IEH). **Uncertainty Factors: Their Use in Human Health Risk Assessment by UK Government.** The Interdepartmental Group on Health Risks from Chemicals (IGHRC). Leicester. UK. 2003.

▫ International Programme on Chemical Safety (IPCS). **Assessing human health risks of chemicals: derivation of guidance values for health-based exposure limits.** Environmental Helath Criteria N°170. World Health Organization, Geneva. 1994.

▫ Kalberlah F and Schneider K. **Quantification of extrapolation factors.** Final Report Research Project N°116 06 113. Dortmund. Germany. BAU, Federal Environment Agency. 1998.

▫ KEMI, The Swedish National Chemicals Inspectorate. **Human Health Risk Assessment: Proposals for the Use of Assessment (Uncertainty) Factors**. Application to risk assessment for plant protection products, industrial chemicals and biocidal products within the European Union. Report n°1/03. January, 2003. Stockholm.

▫ Klimisch HJ, Andreae M, Tillmann U. **A systematic approach for evaluating the quality of experimental toxicological and ecotoxicological data**. Regulatory Toxicology and Pharmacology. 1997;25(1):1-5.

▫ Kupper LL, Portier C, Hogan MD, Yamamoto E. **The Impact of Litter Effects on Dose – Response Modelling In Teratology**. Biometrics. 1986;42(1):85-98.

▫ Lee KY, Shibutani M, Tagagi H, Kato N, Tagigami S, Uneyama C, Hirose M. **Diverse developmental toxicity of di-n-butyl phthalate in both sexes of rat offspring after maternal exposure during the period from late gestation through gestation**. 2004. Toxicology, 203:221-258.

▫ Lehman AJ, Fitzhugh OG. **100-fold margin of safety**. Q. Bull. Assoc. Food Drug. Off. U. S. 1954;18:33-35.

▫ Liang KY and Zeger SL. **Longitudinal data analysis using generalized linear models**. Biometrika. 1986;73(1):13-22.

▫ Mahmood I. **Allometric issues in drug development**. Journal of Pharmaceutical Sciences. 1999;88(11):1101-1106.

▫ McIntyre BS, Barlow NJ, Wallace DG, Maness SC, Gaido KW, Foster PM. **Effects of in utero exposure to linuron on androgen-dependent reproductive development in the male Crl:CD(SD)BR rat**. Toxicology and Applied Pharmacology 2000;167(2):87-99.

▫ Mitchell AE, Bakshi KS, Kimmel CA, Buck GM, Feuston MH, Foster PMD, Friedman JM, Holson JF, Hughes CL, Moore JA, Schwetz BA, Scialli AR, Scott Jr. WJ, Vorhees CV, and Zirkin BR. **Evaluating chemical and other agent exposures for reproductive and developmental toxicity.** Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A, 2004;67:1159-1314.

▫ Moore JA, Daston GP, Faustman E, Golub MS, Hart WL, Hughes Jr. C, Kimmel CA, Lamb IV JC, Schwetz BA, and Scialli AR. **An evaluative process for assessing human reproductive and developmental toxicity of agents.** Reproductive Toxicology, 1995;9(1):61-95.

▫ Murrel JA, Portier CJ, Morris RW. **Characterizing dose-response I: critical assessment of the benchmark dose concept**. Risk Analysis. 1998;13:177-182.

▫ Office of Environmental Health and Hazard Assessment (OEHHA). **Air toxics hot spots program risk assessment guidelines. The air toxics hot spots program guidance manual for preparation of health risk assessments**. Oakland, California. August, 2003.

▫ Odum J, Lefevre PA, Tittensor S, Paton D, Routledge EJ, Beresford NA, Sumpter JP, Ashby J. **The rodent uterotrophic assay: critical protocol features, studies with nonyl phenols, and comparison with a yeast estrogenicity assay.** Regulatory Toxicology and Pharmacology 1997;25:176-188.

▫ Organisation de Coopération et de Développement Economique (OCDE). **Lignes Directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques.** http://www.oecd.org/ :

- 414. Guideline for teratogenicity studies (12 May 1981), mise à jour 22 janvie 2001 ;
- 415. Etude de la reprotoxicité sur une génération (26 mai 1983) ;
- 416. Etude de la toxicité pour la reproduction sur deux générations (26 mai 1983), mise à jour 22 janvier 2001 ;
- 417. Toxicokinetics (Updated Guideline, adopted 4th April 1984) ;
- 421. Essai de dépistage de la toxicité pour la reproduction et le développement (27 juillet 1995) ;
- 422. Etude combinée de la toxicité à doses répétées et du dépistage de la toxicité pour la reproduction et le développement (22 mars 1996) ;
- 426. Developmental neurotoxicity study (Draft new guideline – 2004).

▫ Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). OECD series on testing and assessment number 38. **Detailed background review of the uterotrophic bioassay. Summary of the available literature in support of the project of the OECD task force on endocrine disrupters testing and assessment to standardise and validate uterotrophic bioassay.** JT00141595. ENV/JM/MONO(2003)1. March, 2003. Paris. 217 p.

▫ Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). **Draft guidance document on reproductive toxicity testing and assessment.** Series on Testing Assessment N°43. November 2004.

▫ Parham F and Portier Ch. **Benchmark Dose Approach in Recent Advances in Quantitative Methods**. In Cancer and Human Health Risk Assessment. Edited by L. Edler and C. Kistos. 2005. Wiley and Sons.

▫ Rai K and Van Ryzin J. **A Dose-Response Model for Teratological Experiments Involving Quantal Responses**. Biometrics. 1985;41:1-9.

▫ Renwick AG, Symposium paper: **Safety factors and establishment of acceptable daily intakes**, Food Additives and Contaminants. 8(2), 1991: 135-150.

▫ Renwick AG. **Data derived safety factors for the evaluation of food additives and environmental contaminants**. Food Additives and Contaminants. 1993. 10:275-305.

▫ Renwick AG. **The use if safety or uncertainty factors in the setting of acute reference doses**. Food Additives and Contaminants. 2000a; 17(7):627-635.

▫ Renwick AG, Dorne JL, Walton K. **An analysis of the need for additional uncertainty factor for infants and children**. Regulatory Toxicology and Pharmacology. 2000b; 31(3):286-296.

▫ Renwick AG, Lazarus NR. **Human variability and noncancer risk assessment – an analysis of the default uncertainty factor**. Regulatory Toxicology and Pharmacology. 1998;27:3-20.

▫ Rhomberg LR, Lewandowski TA. **Methods for identifying a default cross-sepcies scalinf factor. Human and Ecological Risk Assessment**. 2006;12:1094-1127.

▫ Shelby MD, Newbold RR, Tully DB, Chae K, Davis VL. **Assessing environmental chemicals for estrogenicity using a combination of *in vitro* and *in vivo* assays.** Environmental Health Perspectives. 1996;104(12):1296-1300.

▫ Slob W. **Dose-Response Modeling of Continuous Endpoints**. Toxicological Sciences. 2002; 66(2):298-312.

▫ Squire RA. **Carcinogenic potency and risk assessment**. Food Additives and Contaminants. 1984;1(2):221-231.

▫ Tamhane AC, Dunnett CW, Green JW, Wetherington JD. **Multiple Test Procedures for Identifying the Maximum Safe Dose**. Journal of the American Statistical Association. 2001;96(455):835-843.

▫ Thuret A. **Evaluation des risques sanitaires et environnementaux : évaluation des incertitudes associées à la détermination des valeurs toxicologiques de référence.** Thèse présentée à la faculté de pharmacie de Dijon pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie. 25 juin 2004. Université de Bourgogne. Faculté de Pharmacie.

▫ US Environmental Protection Agency (US EPA). **Guidelines for developmental toxicity risk assessment.** Risk Assessment Forum. EPA/600/FR-91/001. December 1991. 70p.

▫ US Environmental Protection Agency (US EPA). **Methods for derivation of inhalation reference concentrations and application of inhalation dosimetry.** Environmental Criteria and Assessment Office. Office of Health and Environmental Assessment. EPA/600/8-90/066F. October 1994. 389 p.

▫ US Environmental Protection Agency (US EPA). **Guidelines for reproductive toxicity risk assessment. Risk Assessment Forum.** EPA/630/R-96/009. October 1996. 126p.

▫ US Environmental Protection Agency (US EPA). **A review of the reference dose and reference concentration processes**. Prepared for the Risk Assessment Forum. U.S. Environmental Protection Agency Washington, DC. December, 2002. Final Report EPA/630/P-02/002F.

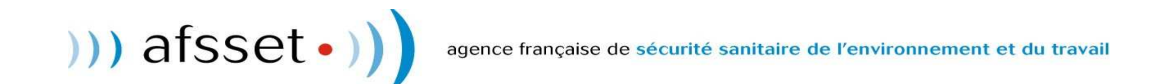
▫ US Environmental Protection Agency (US EPA). **Benchmark dose technical guidance document.** External review draft prepared for Risk Assessment Forum. US EPA, Washington DC. October, 2002. Draft EPA/630/R-00/001.

▫ Walton K, Dorne JL, Renwick AG. **Uncertainty factors for chemical risk assessment: interspecies differences in the in vivo pharmacokinetics and metabolism of human CYP1A2 substrates.** Food and Chemical Toxicology. 2001;39(7):667-680.

▫ Wanner T. **Current statistical Approaches to clinical pathological data form toxicological studies**. Toxicologic Pathology. 1992;20(3 Pt 2):477-479.

▫ Williams DA. **The analysis of binary responses from toxicological experiments involving reproduction and teratogenecity**. Biometrics. 1975;31:949-952.

▫ World Health Organization (WHO). Harmonization Project Document No. 2. **Chemical-specific adjustment factors for interspecies differences and human variability: guidance document for use of data in dose/concentration – response assessment**. WHO. Geneva. 2005. 96 pages.



Identification d'une liste de substances toxiques pour la reproduction et le développement

et

Proposition d'une méthode de hiérarchisation pour l'analyse des Valeurs Toxicologiques de Référence

RAPPORT

Du Groupe d'Experts « VTR reprotoxiques »

Décembre 2006

253 Avenue du Général Leclerc - 94701 MAISONS-ALFORT CEDEX
☎ 01 56 29 19 30 - 🖷 01 43 96 37 67 - http://www.afsset.fr

GROUPE D'EXPERTS :

Organismes

AFSSA	représentée par	M. Sébastien GARRY, Unité d'évaluation des risques physico-chimiques ;
		M. François BORDET, analyste et physicochimiste, Unité Toxines, Polluants Organiques et Pesticides, Laboratoire d'Etudes et de Recherche sur la Qualité des Aliments et sur les Procédés agro-alimentaires ;
CAP-TV	représentés par	M. Robert GARNIER, toxicologue, Centre Antipoison de Paris ;
CNAM	représenté par	M. Maurice RABACHE, Toxicochimiste, Laboratoire de biologie ;
		M. André PICOT, Directeur de recherche honoraire ;
ENSP	représentée par	M. Denis BARD, épidémiologiste et évaluateur de risques ;
INERIS	représenté par	Mme Blandine DOORNAERT, toxicologue, Unité d'expertise toxicologique des substances chimiques ;
INRS	représenté par	M. Dominique LAFON, toxicologue, Département études et assistance médicales ;
INSERM	représenté par	M. Luc MULTIGNER, épidémiologiste, U625, Groupe d'études sur la reproduction de l'homme et des mammifères ;
InVS	représenté par	M. Frédéric DOR, évaluateur de risques, Département santé environnement ;
		M. Pascal EMPEREUR-BISSONNET, évaluateur de risque, Département santé environnement ;
UIC	représenté par	M. Patrick LEVY, toxicologie, médecin conseil de l'Union des Industries Chimiques.

Coordination scientifique :

Mlle Nathalie BONVALLOT – Afsset

Appui scientifique de l'Afsset à la rédaction :

Mlle Cécilia SOLAL, toxicologue

M. Cédric Duboudin, statisticien

M. Jean-Ulrich Mullot, stagiaire de Master Santé Environnement 2004-2005.

Secrétariat administratif :

Mme Séverine BOIX – Afsset

Mme Romy COLLET – Afsset

ADOPTION DU RAPPORT :

Ce rapport a été soumis pour commentaires au CES « Substances Chimiques » le 28 janvier 2005.

Après prise en compte des commentaires, le rapport a été approuvé par le CES « substances chimiques » le 1er décembre 2006.

SOMMAIRE

ANNEXES :

CONTEXTE

En 2002, un groupe d'experts du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France (CSHPF) a conduit une évaluation quantitative des risques sanitaires liés à l'exposition de la population aux éthers de glycol au travers des produits de consommation[1]. Au terme de cette démarche, le groupe précisait notamment que la recherche de valeurs toxicologiques de référence (VTR) pour les effets sur la reproduction et le développement embryofœtal avait été peu fructueuse. D'une manière générale, peu de VTR pour ces effets sont proposées, même lorsque des informations scientifiques sont disponibles.
Une nouvelle expertise relative aux éthers de glycol a été conduite et rendue publique en 2002, dans le cadre du CSHPF. Ce travail a montré combien devait être soigneuse la démarche de caractérisation des dangers, exercice qui exige une analyse critique approfondie de l'ensemble de la littérature scientifique, et l'adoption de règles de jugement claires et explicites. Il s'agit là d'un domaine de toxicologie qui doit être développé en priorité. La mise en lumière de ces difficultés d'ordre scientifique a conduit le groupe d'experts mis en place à envisager une réflexion sur les VTR au sein des instances nationales compétentes. Par ailleurs, le CSHPF, dans son avis du 7 novembre 2002, précisait que d'importantes améliorations devaient être apportées au dispositif d'évaluation des risques liés aux substances chimiques et insistait sur l'urgence d'organiser et de renforcer en France l'expertise dans ce domaine, celle-ci devant pouvoir bénéficier de l'appui scientifique et technique d'une instance publique spécialisée[2].

La connaissance des méthodes de construction des valeurs toxicologiques de référence (VTR)[3] permet aujourd'hui d'avoir un avis plus éclairé sur l'utilisation de la toxicologie au sein de la démarche d'évaluation des risques sanitaires. L'élaboration des VTR suit une démarche très structurée et exigeante qui implique des évaluations collectives par des groupes de spécialistes. C'est une procédure lourde, aux conséquences majeures en terme de gestion des risques. Ainsi, en accord avec le plan d'action préparé par la Direction Générale de la Santé (DGS) et annoncé lors du Comité National de Sécurité Sanitaire du 26 février 2003[4] sur les éthers de glycol, l'AFSSET a proposé, dans le cadre de ses missions[5] et dans un souci de transparence et de cohérence, d'établir un programme national sur les VTR visant à l'amélioration de l'expertise française dans ce domaine.

Pour démarrer ce projet de grande envergure tout en rassemblant dès maintenant les moyens et compétences nécessaires, l'AFSSET a envisagé de partir du dossier des substances chimiques

---

[1] Les éthers de glycols dans les produits de consommation et la santé. Groupe d'experts du CSHPF, section des milieux de vie. Rapport d'avancement au Directeur Général de la Santé. 21 juin 2002.

[2] Avis du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France relatif aux éthers de glycol dans les produits de consommation. Section des milieux de vie. Séance du 7 novembre 2002. http://www.sante.gouv.fr/

[3] Bonvallot N, Dor F. Valeurs toxicologiques de référence : Méthodes d'élaboration. InVS. 2002. 84p.

[4] Le plan d'action, élaboré par le ministère de la santé en concertation avec les différents ministères concernés (travail, industrie, environnement, recherche) contient les mesures réglementaires et leur contrôle, les possibilités d'information du public, l'amélioration des connaissances sur l'exposition et des connaissances scientifiques ; extrait du compte rendu du CNSS du 26 février 2003. Direction Générale de la Santé. SD4B 03.193. Juin 2003.

[5] Rassembler les informations scientifiques pertinentes en évaluation des risques sanitaires *par ses moyens propres ou ceux de ses partenaires* ; informer, former et diffuser l'information scientifique ; encourager et s'assurer de la coordination de la production de connaissances dans le domaine de la santé environnementale.

toxiques sur la reproduction et le développement embryofœtal, thématique qui se positionne au cœur des préoccupations sanitaires. A terme, la mise en place de cette expertise pourrait permettre d'élargir la démarche à d'autres thématiques et de disposer d'une expertise française partagée par les différentes instances compétentes et capable de prendre toute sa place dans les procédures européennes. Ainsi, l'objectif à court terme est de définir des critères de qualité et une démarche structurée pour le choix et la construction de VTR spécifiques aux effets sur la reproduction et le développement embryofœtal. Le projet a pour objet large, à plus long terme, de répondre aux besoins du dispositif de santé publique (par exemple, construction de valeurs repères recommandées dans les milieux de l'environnement).

L'AFSSET a réuni un groupe de travail, composé d'un certain nombre d'organismes d'expertises et de recherches compétents sur le domaine, dont les objectifs étaient de proposer une méthodologie de référence pour la construction de VTR reprotoxiques, d'établir la liste des substances ayant potentiel reprotoxique et de les hiérarchiser pour une analyse de leur VTR.

Ce document vise à établir la liste des substances chimiques ayant un potentiel reprotoxiques, ainsi que de proposer une hiérarchisation pour la construction de VTR.

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION

Ce document a été rédigé par le groupe de travail « VTR & reprotoxicité » coordonné par l'AFSSET et composé d'experts appartenant aux principaux organismes français ayant compétence d'expertise et de veille en sécurité sanitaire environnementale, mettant en œuvre ou enseignant la démarche de l'évaluation quantitative du risque sanitaire (AFSSA, CAP/TV, CNAM, ENSP, INERIS, INRS, INSERM, InVS, UIC). Il vise à identifier les substances chimiques qui sont susceptibles d'avoir un potentiel toxique sur la reproduction ou le développement, ainsi que de les hiérarchiser pour une analyse de leurs propriétés toxicologiques et de leurs valeurs toxicologiques de référence.

La hiérarchisation a par ailleurs servi à sélectionner six substances qui ont fait l'objet d'une phase de faisabilité pour le choix et la construction de VTR fondées sur les effets sur la reproduction et le développement.

La méthode d'identification des substances ayant un potentiel reprotoxique ne permet pas en l'état actuel de hiérarchiser les substances selon i) le caractère avéré de la reprotoxicité chez l'homme ou l'animal, ni selon ii) la préoccupation de santé publique qu'elles peuvent engendrer. Il s'agit simplement de l'identification de l'ensemble des substances qui sont, à l'heure actuelle, potentiellement reprotoxiques.

La méthode de hiérarchisation proposée à la suite ne permet pas de hiérarchiser les substances selon les préoccupations particulières de santé publique. Cette méthode a été utilisée uniquement pour sélectionner des substances candidates pour la construction de VTR, dans le but de développer et d'améliorer la méthode de construction de VTR proposée par le groupe de travail. Il n'est donc pas possible de dire s'il est prioritaire ou non de construire des VTR reprotoxiques pour les principales substances hiérarchisées. Celles-ci devront faire l'objet d'une analyse supplémentaire quant aux données toxicologiques, au caractère avéré de la reprotoxicité, et au bien-fondé de proposer une VTR.

1. DEFINITIONS

Pour s'assurer que les définitions servant de fondements aux éléments de discussions font l'objet d'un consensus au sein de la communauté scientifique concernée, nous proposons de rassembler les définitions les plus usitées des termes couramment reportés dans le document. Sont ainsi réunies dans ce chapitre l'ensemble des définitions issues de documents de référence nationaux ou internationaux et utiles à la compréhension de la démarche du groupe de travail sur le thème de la reprotoxicité et des valeurs toxicologiques de référence.

Par ailleurs, l'objectif de ce document étant d'identifier une liste de substances reprotoxiques candidates, il convient de définir précisément le terme « candidate » qui sera souvent utilisé par la suite. En d'autres termes, on entend par « substances reprotoxiques candidates », toutes les substances qui possèdent un potentiel reprotoxique, suspecté ou confirmé, et qui pourront prétendre par la suite à une inclusion dans la liste prioritaire pour la description et l'analyse de leurs VTR.

1.1. Les effets reprotoxiques

On entend par « *effets reprotoxiques* » tous types d'*effets sur la reproduction ou le développement embryofœtal*. D'après la Directive 2001/59/CE de la Commission du 6 août 2001, il s'agit des effets néfastes (ou nocifs) qui comprennent les altérations des fonctions et/ou de la capacité de reproduction chez l'homme ou chez la femme ainsi que les effets néfastes non héréditaires sur la descendance (plus souvent définis comme les effets sur le développement embryofœtal). Plus précisément, il s'agit, pour les effets sur la fertilité masculine et féminine : des effets néfastes sur la libido, sur le comportement sexuel, sur les différents aspects de la spermatogenèse ou de l'oogenèse, sur l'activité hormonale ou sur la réponse physiologique qui perturberait la capacité de fécondation, sur la fécondation et sur le développement, de l'ovule fécondé jusqu'à l'implantation [CE 2001]. Ce type d'effet peut-être lié à une exposition à n'importe quel moment de la vie.

Les *effets sur le développement* (qui comprennent tous les effets embryo- ou fœtotoxiques) correspondent à tout effet de type retard de croissance et de développement, réduction du poids corporel, toxicité pour les organes, mort ou avortement, anomalies structurelles (tératogenèse) ou fonctionnelles, anomalies péri ou postnatales, ou encore altérations du développement mental ou physique après la naissance et jusqu'au développement pubertaire. [US EPA 1991, 1996].

1.2. Les substances reprotoxiques

Les *substances reprotoxiques* sont les substances qui possèdent un caractère toxique sur la reproduction et/ou le développement et qui sont donc susceptibles d'engendrer une altération des fonctions de reproduction humaine ou du produit de la conception lors d'une exposition.

1.3. Les perturbateurs endocriniens

Les perturbateurs endocriniens sont des substances chimiques naturelles ou de synthèse qui peuvent interférer avec la synthèse, le stockage, le transport, le métabolisme, la fixation, l'action ou l'élimination des hormones endogènes. Ils sont donc susceptibles de provoquer une modification du fonctionnement d'une partie du système endocrinien et de provoquer des effets sur les équilibres biologiques. Ces effets sont nombreux et variés en raison de la grande complexité du système endocrinien. Il peut s'agir d'effets sur la croissance et le développement, le comportement et la réaction aux stimuli (peur, agitation), la reproduction et le développement embryofœtal, la production, l'utilisation et le stockage de l'énergie, le maintien électrolytique (équilibre eau / sels) dans l'organisme.

Ainsi, certains perturbateurs endocriniens, de par leur action sur les hormones sexuelles, peuvent avoir un potentiel reprotoxique, bien qu'ils n'engendrent pas spécifiquement d'effets sur la reproduction ou le développement. Par ailleurs, tous les reprotoxiques ne sont pas connus pour agir via un mécanisme de perturbation endocrinienne.

1.4. Les valeurs toxicologiques de référence (VTR)

Une VTR est une valeur permettant d'établir une relation quantitative et qualitative entre une exposition à une substance chimique et un effet sanitaire chez l'homme.

Il existe de nombreuses VTR qui ne s'expriment pas de la même façon, soit parce qu'elle ne s'appliquent pas aux mêmes conditions d'exposition, soit parce que leurs méthodes de construction sont différentes. En effet, les VTR sont spécifiques d'une durée d'exposition (aiguë, subchronique ou chronique) et d'une voie d'exposition (orale ou respiratoire). Ces différents contextes sont à l'origine de la diversité des VTR que les évaluateurs de risque sont amenés à utiliser. Par ailleurs, leur construction diffère en fonction des connaissances ou des hypothèses formulées sur les mécanismes d'action biologiques des substances. Ainsi, le plus souvent, quand une substance est connue comme ayant une action directe sur le matériel génétique humain (l'ADN), on considère que les effets indésirables que peut engendrer une exposition à cette substance peuvent se produire même pour la plus petite dose reçue, et que la probabilité de survenue de cet effet croît linéairement avec la dose. On parle de «VTR sans seuil d'effet» ou «sans seuil de toxicité». Si une substance n'a pas d'action directe sur le matériel génétique humain, on considère que l'effet indésirable survient au-delà d'une certaine dose reçue et c'est la gravité de l'effet qui croît avec la dose plutôt que la probabilité de survenue. On parle de «VTR à seuil d'effet» ou «à seuil de toxicité».

Les VTR servent aussi à construire des objectifs de qualité des milieux de l'environnement, des valeurs guides, des recommandations ou des normes.

1.5. Les VTR reprotoxiques

Les VTR reprotoxiques sont des VTR construites à partir d'un effet reprotoxique. Elles peuvent être différentes en fonction de la durée d'exposition considérée. Par exemple, si l'on considère un effet sur le développement embryofœtal, la VTR pourra être proposée pour une durée d'exposition aiguë, si on ne dispose pas de connaissance sur la période critique d'exposition pendant l'organigenèse. Pour un effet sur les capacités de reproduction, la VTR peut être par exemple subchronique.

Les méthodes de construction des VTR, considérant la définition proposée pour les effets reprotoxiques, sont communément fondées sur l'hypothèse d'un seuil de toxicité pour ces effets, quand les données disponibles ne montrent pas le contraire.

2. IDENTIFICATION D'UNE LISTE DE SUBSTANCES REPROTOXIQUES CANDIDATES

Une liste de substances reprotoxiques ne peut pas être exhaustive. Compte tenu du nombre de substances chimiques existant, l'établissement d'un liste de ce type relève d'une veille toxicologique lourde et contraignante durable dans le temps.

Pour produire une première liste de substances candidates dans des délais raisonnables, il est possible de s'appuyer sur des classifications et des listes de substances préexistantes, reconnues par la communauté scientifique, et répertoriant des agents dont on connaît certains effets sur la reproduction ou le développement. Si ces listes ne sont pas exhaustives, elles tiennent compte pour le mieux des connaissances actuelles et sont fréquemment remises à jour.

Trois types de sources d'informations sont distingués. Le premier correspond aux listes de substances reprotoxiques déjà établies et validées par la communauté scientifique. Il s'agit des données provenant de la classification européenne des substances toxiques pour la reproduction [Commission Européenne 2004 ; INRS 2002] ; ainsi que des données provenant de la liste réglementaire californienne de substances toxiques pour la reproduction [OEHHA 2004a]. Le second type de sources d'informations correspond à des listes de substances qui peuvent, de par leurs caractéristiques ou la nature de la source exploitée, avoir un potentiel reprotoxique dont il faudra s'assurer. Il s'agit par exemple des données provenant des listes de perturbateurs endocriniens avérés ou potentiels (liste de la Commission Européenne élaborée par BKH, liste du CDC) [Commission of the European Communities 2001b; Choi *et al.* 2004] ; ainsi que des informations issues des travaux d'organismes tels que le CERHR (Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction) ou le NTP (National Toxicology Program). Ce deuxième type de sources de données ne donne pas d'information directe sur la reprotoxicité des substances. Un travail d'exploitation de ces données est donc nécessaire pour identifier i) si ces données sont utilisables pour l'identification d'une liste de substances candidates telle qu'énoncée plus haut, ii) et le cas échéant, s'il existe bien des substances reprotoxiques au sein de ces sources.

Par ailleurs, compte tenu de l'objectif du travail et de l'implication du groupe dans l'amélioration de l'expertise relative aux VTR, il apparaît nécessaire d'identifier, en tant que 3ème type de sources de données, les bases de données sur les VTR afin d'identifier l'ensemble des substances pour lesquelles au moins une VTR reprotoxique est proposée. Les sources d'informations proposées sont détaillées dans ce chapitre.

2.1. Classification réglementaire européenne « CMR »

Il s'agit de la liste des substances classées reprotoxiques de catégories 1, 2 et/ou 3. La réglementation européenne impose de classer les molécules en fonction de leurs propriétés intrinsèques de danger. La liste des substances chimiques toxiques pour la reproduction est mise à jour régulièrement en fonction de l'évolution des connaissances. Ces substances figurent à l'annexe I de la Directive

67/548/CEE modifiée relative à la classification, l'étiquetage et l'emballage des substances dangereuses (qui correspond en droit français à l'annexe I de l'arrêté du 20 avril 1994 modifié). Cette liste inclut toutes les substances dangereuses, mentionnées dans les 19ème à 29ème adaptations au progrès technique (ATP) de ladite Directive. Elle tient compte des connaissances nouvelles jusqu'en 2004[6].

La classification de la toxicité sur la reproduction inclut 2 aspects : la toxicité sur la fertilité (effets sur les fonctions de reproduction mâles ou femelles) et la toxicité sur le développement (interférence avec le développement normal avant et après la naissance). Une substance reprotoxique peut donc être classée pour l'un, l'autre ou les deux aspects suivant ses effets. Les substances ayant des atteintes sur la fertilité peuvent être classées en catégorie 1 ou 2 avec la phrase de risque R60 (Peut altérer la fertilité) ou en catégorie 3 avec la phrase de risque R62 (Risque possible d'altération de la fertilité). Les substances qui provoquent une toxicité sur le développement peuvent être classées en catégorie 1 ou 2 avec la phrase de risque R61 (Risque pendant la grossesse d'effets néfastes pour l'enfant) ou en catégorie 3 avec la phrase de risque R63 (Risque possible pendant la grossesse d'effets néfastes pour l'enfant).
Pour les deux types d'effets, la classification dans la catégorie 1 repose sur des données épidémiologiques alors que la classification dans les catégories 2 ou 3 repose essentiellement sur des données animales. Les critères de classification pour ces deux dernières catégories sont similaires, mais la catégorie 3 peut être utilisée lorsque les protocoles expérimentaux présentent des défauts qui rendent les conclusions moins convaincantes [INRS 2002].

2.2. Classification réglementaire californienne P65

Il existe en Californie une liste de substances toxiques pour la reproduction et le développement. Elle est liée à l'application de la Proposition 65 qui découle d'un programme appelé « Safe drinking water and toxic enforcement act of 1986 », voté en novembre 1986. Cette disposition réglementaire est destinée à protéger les citoyens et les sources d'eau potable de Californie contre les substances chimiques connues comme étant reprotoxiques, ainsi qu'à informer les citoyens des expositions relatives à de telles substances. Cette proposition exige du gouverneur de Californie l'édition, au moins annuelle, d'une liste de substances chimiques connues comme potentiellement reprotoxiques. Cette liste est mise à jour au vu des nouvelles connaissances scientifiques. Il n'y a pas de classification en catégorie. Contrairement à la classification CMR européenne liée aux substances chimiques, cette liste regroupe l'ensemble des substances pouvant être reprotoxiques, y compris les

[6] D'après la Directive, cette classification est destinée à être utilisée pour les substances qui présentent une propriété intrinsèque ou spécifique à engendrer des effets reprotoxiques. Les substances ne sont pas classées si ces effets interviennent uniquement en tant que conséquence non spécifique d'autres effets toxiques. Les substances les plus préoccupantes sont celles qui sont toxiques à des niveaux d'exposition qui n'entraînent aucun autre signe de toxicité. »

médicaments, même si d'autres signes de toxicité se manifestent à des expositions plus faibles [OEHHA 2004a].

2.3. Liste européenne des perturbateurs endocriniens

Une liste de 553 substances candidates concernant les perturbateurs endocriniens (ou les substances susceptibles de l'être) a été établie en 2000 pour la Commission Européenne [BKH Consulting Engineers 2000]. Cette liste a été proposée pour commencer à évaluer les capacités qu'ont certaines substances chimiques à altérer le système endocrinien. Les fonctions de reproduction étant gérées par le système endocrinien, il a semblé important de tenir compte de cette source d'information car certains perturbateurs endocriniens peuvent être reprotoxiques. Toutefois, il faut noter que les relations entre les perturbations endocriniennes (action sur les hormones) et les effets reprotoxiques n'ont été que très rarement démontrées. Dans la liste proposée à la Commission Européenne, 60 substances ont été identifiées comme faisant partie du 1er groupe (au moins une étude *in vivo* fournissait la preuve d'une perturbation endocrinienne), 55 ont été classées dans le 2ème groupe (suspicion à partir des données *in vitro*) et 438 l'ont été dans le 3ème groupe (absence de fondement scientifique ou absence de donnée).

Les substances retenues pour notre étude pourraient être celles dont la toxicité sur le système endocrinien est déjà avérée, ce qui est également la position de la Commission Européenne pour la définition de priorités de recherche (catégorie ED1 pour « Endocrine Disruptor »), et pour lesquelles au moins un effet sur le développement ou la reproduction a été observé (chez l'homme ou chez l'animal). Ceci impose de connaître les effets toxiques de chacune des substances.

2.4. Liste américaine des perturbateurs endocriniens

Une liste de 48 perturbateurs endocriniens suspects a été établie en 1996 par le CDC (Center for Disease Control and prevention). Cette liste a été proposée en raison des craintes et de l'étendue du problème pouvant être lié aux perturbateurs endocriniens. Ces substances devaient faire l'objet d'évaluations approfondies pour une meilleure compréhension des mécanismes de perturbations endocriniennes et une gestion plus efficace des problèmes que ces substances engendrent. Les substances retenues pour cette étude sont celles pour lesquelles on disposait d'études de reprotoxicité positives [Choi, *et al.* 2004].

2.5. Les travaux du CERHR

Le CERHR (Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction) a été mis en place conjointement par le NTP (National Toxicology Program) et le NIEHS (National Institute for Environmental Health and Safety). Les travaux qu'il diffuse via son site Internet apportent des informations sur les effets sur la reproduction et le développement causés par des agents chimiques auxquels l'homme peut être exposé [CERHR 2004]. Le choix des molécules est sollicité par la

population générale (citoyens) et les communautés scientifiques (industriels, gouvernements, académies, groupes environnementaux). A partir de ces choix, des experts :

- évaluent les preuves de danger sur la reproduction ou le développement d'une substance chez l'homme ;
- déterminent les profils d'utilisation et d'exposition chez l'homme de la substance ;
- se prononcent sur les risques reprotoxiques qui seraient mis en évidence ;
- identifient les besoins de recherches et d'expérimentations supplémentaires afin de prouver scientifiquement la réalité d'un danger ou d'un risque lié à la substance.

De nombreuses substances sont disponibles sur le site du CERHR. Un premier tableau regroupe la liste de substances sélectionnées et montre également l'état de progression de l'analyse par le CERHR. Les molécules qui font partie de ce tableau sont donc en cours d'évaluation. Les substances peuvent être au stade de leur nomination, en cours d'évaluation ou évaluées (rapport terminé). Selon les rapports, des conclusions sont émises quant aux effets reprotoxiques causés par certaines substances. 15 substances ont été évaluées jusqu'à ce jour, pour lesquelles 10 substances présentent un risque reprotoxique avéré.

2.6. Substances possédant une ou plusieurs VTR reprotoxiques

Les VTR reprotoxiques ont été recherchées dans les bases de données habituellement utilisées en évaluation des risques sanitaires (IRIS, ATSDR…). Il existe un grand nombre de bases de données ou apparentées qui proposent des VTR pour les substances chimiques rencontrées dans l'environnement. Les principales, qui seront utilisées pour ce travail, sont listées ci-dessous. A noter toutefois la difficulté d'exhaustivité car les recherches ne se font pas par types d'effets mais par nom de substance ou numéro CAS (Chemical Abstract System). Ces recherches ont été finalisées en janvier 2004.

2.6.1. IRIS (Integrated Risk Information System)

IRIS est une base de données très complète sur la construction des VTR de l'US EPA (« *Reference Concentrations* » RfC, « *Reference Doses* » RfD, et « *Excès de Risque Unitaire* » ERU), uniquement pour des expositions chroniques. La base regroupe environ 550 substances référencées par ordre alphabétique avec le numéro CAS et la dernière révision des VTR proposées pour chacune des substances [US EPA 2004]. Un tableau récapitulatif précise les VTR disponibles (pour les effets non cancérogènes et cancérogènes, voie orale et respiratoire). La base est conviviale et les données facilement accessibles. On peut identifier à partir de cette base 49 substances pour lesquelles au moins une VTR reprotoxique a été proposée.

2.6.2. ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry)

L'ATSDR ne propose pas de base de donnée mais établit une liste de tous les « Minimal Risk Level » ou MRL (aigus, intermédiaires et chroniques). Il ne s'agit que de VTR pour les effets non cancérogènes. Environ 150 substances sont référencées par ordre alphabétique, et plus de 300 VTR sont disponibles. Pour chacune des substances, le tableau identifie le nom et le numéro CAS, les voies d'exposition, les durées d'exposition, la valeur du MRL, la valeur du facteur d'incertitude global appliqué (sans précision), le type d'effets et la date de construction. La présentation est très synthétique et permet d'identifier 34 VTR reprotoxiques [ATSDR 2004].

2.6.3. OEHHA (Office of Environmental Health Hazard Assessment)

L'OEHHA de l'Etat de Californie publie sur son site Internet des valeurs de référence, ou valeurs guides dans l'eau de boisson et dans l'air ("Public Health Goals" (PHG) pour 69 substances et acute & chronic "Reference Exposure Levels" (REL) pour 23 substances, 1999). Ces valeurs guides sont construites sur des critères sanitaires et dérivent le plus souvent de VTR. Les méthodes de construction sont bien expliquées. On identifie environ 36 substances pour lesquelles une VTR reprotoxique et une valeur guide ont été construites [OEHHA 2004b].

2.6.4. Santé Canada

Santé Canada propose sur son site Internet deux documents en français qui rassemblent les éléments permettant de comprendre la construction des VTR (*« Dose journalière admissible »* DJA, *« Concentration admissible dans l'air »* CAA et *« Dose ou concentration tumorigène à 5% »* TD/C_{05}). Un tableau récapitulatif final présente les VTR et/ou les valeurs guides issues de ces VTR pour des expositions chroniques, pour les effets cancérogènes et/ou non cancérogènes avec le nom de la substance, le numéro CAS, la date de la revue de la littérature, la classification de la cancérogénicité et quelques remarques. Il y a peu d'informations spécifiques pour chaque VTR et aucune sur les effets pris en compte. 44 substances ont été évaluées en 1996 et 27 substances en 2004. On identifie 4 substances pour lesquelles une VTR reprotoxique est proposée [Health Canada 1996, 2004].

2.6.5. RIVM (RijksInstituut voor Volksgezondheid en Milieu)

Le RIVM propose sur son site Internet un lien avec le rapport de ré-évaluation des VTR (MPR values : TDI, TCA et CR ; Re-evaluation of human toxicological maximum permissible risk level, mars 2001). Les annexes du document rassemblent les 52 substances qui ont été évaluées par le RIVM avec pour chacune d'entre elles, un profil toxicologique complet, la construction de la VTR et la construction des VTR des autres organismes. Il n'y a pas de tableau récapitulatif permettant de saisir rapidement les

critères fondamentaux de construction des VTR (comme le type d'effet). Par ailleurs, la construction des VTR des substances qui n'ont pas été ré-évaluées en 2001 est expliquée dans un document publié en 1991. On peut recenser 8 substances pour lesquelles une VTR reprotoxique est proposée [RIVM 2004].

2.6.6. Organisations internationales

L'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) recense sur son site Internet les valeurs guides de qualité d'eau et de qualité d'air, qui sont pour la plupart construites à partir de VTR. Les documents sont synthétiques mais il n'y a pas de tableau récapitulatif. L'OMS propose 12 valeurs guides de qualité d'air ou d'eau issues de VTR reprotoxiques [OMS 2004]. Les informations issues du JECFA et du JMPR n'ont pas été analysées car plus de 1700 substances chimiques et un grand nombre de pesticides y sont référencés et la recherche ne peut se faire par type d'effets. Cette limite participe à la non exhaustivité de la liste des substances possédant au moins une VTR reprotoxique [IPCS 2004].

2.7. Sources d'informations diverses

2.7.1. National Toxicology Program (NTP)

Le NTP propose sur son site Internet une liste de résumés d'expérimentations animales menées sur des substances reprotoxiques. Ces résumés sont issus de rapports complets dont il est possible d'obtenir une copie auprès du NTP Central Data Management ou bien du National Technical Information Service (NTIS). Le NTP propose des informations scientifiques sur des substances potentiellement toxiques et ces informations peuvent être utilisées pour la protection de la santé publique ou pour la prévention des maladies liées à ces substances [NTP 2004].

Ces résumés peuvent apporter des informations sur les effets reprotoxiques des substances étudiées et déterminent les doses sans effets (NOEL et NOAEL) pour certaines d'entre elles.

3 classes de toxicité sont étudiées par le NTP : la tératogénicité, la toxicité sur la fertilité et le développement, et la toxicité sur le nourrisson par passage dans le lait maternel.

2.7.2. Pesticide Education Center (PEC)

Le PEC est une association californienne à but non lucratif créée en 1988 afin de communiquer et d'informer les travailleurs et le public sur les dangers et les risques des pesticides sur la santé humaine et l'environnement. *« The Birth Defects Prevention Act (SB950) »* stipule que tout pesticide vendu et utilisé en Californie doit faire l'objet d'une évaluation de leur potentiel cancérogène, mutagène, reprotoxique et autres effets chroniques. Les évaluations sont réalisées par des toxicologues du Cal-EPA (California Environmental Protection Agency).

La liste des pesticides du PEC comporte, pour chaque catégorie d'effets individualisés, des scores de 1 à 4, signifiant une toxicité décroissante [PEC 2004]. Dans les catégories de tests réalisés chez

l'animal, les tests de reprotoxicité chez le rat ainsi que les anomalies observées à la naissance (tératogénicité) chez le rat et le lapin sont identifiés en tant que tels et peuvent donc être rapidement exploités pour inclusion dans la liste candidate.

2.8. Résultats et discussions

➢ La classification européenne pour les substances CMR identifie en 2004 170 substances reprotoxiques issues de la liste CMR. Les substances reprotoxiques des catégories 1 à 3 ont été incluses dans la liste des substances candidates. Dix-neuf (19) substances sont classées en catégorie 1 (dont 13 dérivés du plomb), 69 le sont en catégorie 2 et 108 en catégorie 3. Les données proviennent des listes de l'annexe I de l'arrêté du 20 avril 1994 modifié relatif à la déclaration, la classification, l'emballage et l'étiquetage des substances et de la Directive 2004/73/CE du 29 avril 2004. Notons que certaines substances possèdent 2 catégories de reprotoxicité, en raison des 2 classifications possibles (fertilité et développement).

➢ La liste issue de la proposition 65 californienne de juillet 2003 identifie 83 substances reprotoxiques, hors médicaments pharmaceutiques. Ces 83 substances ont été incluses dans la liste de substances reprotoxiques.

➢ La liste prioritaire de perturbateurs endocriniens établie pour la Commission Européenne identifie 60 substances de catégorie 1 (nommées ED1 dans le tableau), seules prises en compte. Il s'agit des substances pour lesquelles le caractère perturbateur endocrinien a été prouvé (tout effet perturbant le système endocrinien considéré). A partir de cette liste d'ED1, une deuxième sélection a eu lieu afin de ne garder dans la liste que les ED1 reprotoxiques. Les bases de données Internet consultées à cet effet (Toxnet HSDB, ATSDR, moteur de recherche du NTP) ont permis de collecter des publications et des profils toxicologiques sur ces ED1 pour éliminer les perturbateurs endocriniens n'ayant pas de profil reprotoxique identifié. Les substances pour lesquelles aucun renseignement pertinent n'a été trouvé sur ces bases de données ont été éliminées de la liste. Finalement, 26 substances sont reprotoxiques, 4 sont non reprotoxiques, pour 6 autres, les résultats d'études sont divergents et pour 24, on ne dispose pas de données. On peut donc ajouter à la liste 26 substances ED1 reprotoxiques. La liste du CDC, quant à elle, identifie 39 perturbateurs endocriniens reprotoxiques.

➢ La recherche des VTR dans les bases de données préalablement sélectionnées a identifié 105 substances pour lesquelles il existe au moins une VTR reprotoxique.

➢ Les dossiers d'évaluation des substances du CERHR, lorsqu'ils existent, peuvent apporter des informations synthétiques sur la reprotoxicité des substances. Ces sources pourront être utilisées comme base de données lors de l'analyse toxicologique sur les substances sélectionnées (recherche

d'indices toxicologiques, relations dose-réponse…). Seules les 10 substances évaluées positivement seront insérées dans la liste.

➢ Les rapports du NTP ne sont pas toujours explicites quant à la reprotoxicité des substances, et les résumés sont parfois ininterprétables (pas d'extrapolation chez l'homme, résultats non concluants…). Cette base de données ne peut donc être utilisée comme source d'inclusion de nouvelles substances reprotoxiques, mais pourra apporter par la suite des informations pertinentes pour l'analyse toxicologique.

➢ Les informations du PEC peuvent être exploitables directement du fait de l'individualisation des conclusions sur la reprotoxicité des pesticides étudiés. Cette source d'information identifie 240 pesticides reprotoxiques.

L'ensemble de ces informations a été intégré pour former une liste unique de substances reprotoxiques candidates à la future hiérarchisation ou sélection. Les substances incluses dans diverses listes et/ou possédant plusieurs types de VTR n'ont été insérées qu'une seule fois. L'annexe 1 présente cette liste finale, résultats de la première étape du travail : 445 substances (ou groupes de substances) reprotoxiques serviront de base au travail d'analyse et de développement d'une méthode de sélection et de hiérarchisation.

3. PROPOSITION D'UNE METHODE DE HIERARCHISATION

La liste de substances reprotoxiques établie dans le chapitre précédent fait état de 445 substances chimiques ayant un potentiel reprotoxique. Compte tenu de la mission du groupe de travail, qui est de proposer une méthode de construction pour les VTR fondées sur des effets reprotoxiques, et qui nécessitera une analyse complète des données toxicologiques, des relations doses-effets ainsi que des VTR proposées, il apparaît nécessaire de ne considérer dans un premier temps qu'un petit nombre de substances. Pour cela, une approche de hiérarchisation basée sur des éléments indirects est envisagée.

Une revue de la littérature montre que, du fait du très grand nombre de substances chimiques autorisées sur le marché mondial, de nombreux pays ou institutions proposent des méthodes de hiérarchisation des substances chimiques. Il s'agit principalement de méthodes de hiérarchisation par attribution de scores. Cette recherche a été complétée par une exploration des sites Internet des principaux organismes qui, dans le cadre de leurs missions, ont mis en place des systèmes de hiérarchisation (par exemple, l'OEHHA, l'US EPA, le CEHRH, l'ECB, l'ATSDR, Health Canada, le NHMRC, etc.). Cette seconde recherche a permis d'avoir une vue plus large des propositions de hiérarchisation existantes, bien que les méthodes par attribution de scores soient également au premier rang. A également été identifiée la possibilité donnée aux experts de proposer des substances chimiques pertinentes, proposition fondée sur l'expérience professionnelle, les compétences inhérentes, et une justification scientifique. Cette méthode revient à aiguiller une hiérarchisation à l'aide d'une sélection préalable au sein de l'ensemble du panel des substances chimiques.

Le chapitre identifie donc ces deux propositions de hiérarchisation des substances (attribution de scores et proposition d'experts) en tant que méthodes existantes, les décrit brièvement, et s'accorde sur leur utilisation ou non, brute ou modifiée, pour la hiérarchisation des substances reprotoxiques. Enfin, après avoir fait l'état des pratiques extérieures, le chapitre 3.2 propose une hiérarchisation des substances reprotoxiques issus des éléments décrits.

3.1. Recueil des méthodes existantes

3.1.1. <u>Méthodes de hiérarchisation par attribution de score</u>

3.1.1.1. Description des méthodes

Ces méthodes sont largement répandues aujourd'hui. Leurs objectifs peuvent être divers ; il s'agit par exemple de la construction de listes prioritaires pour l'élaboration de profils toxicologiques, de priorités de recherche, de gestion des risques dans des régions fortement contaminées, de l'application d'une réglementation, etc. Les systèmes de hiérarchisation sont nombreux et sont couverts par la littérature scientifique habituelle tout autant que la littérature grise, publiée ou non. A titre d'exemple, l'EPA

identifie de manière non exhaustive dans un rapport d'évaluation comparative 51 systèmes de hiérarchisation (nommées « scoring ») des substances chimiques [US EPA 1994].
Compte tenu du nombre important des systèmes de hiérarchisation existants, et des objectifs de notre travail, une simple description pertinente des systèmes proposés par les différentes institutions sera présentée.

<u>Au Canada</u>

En 1988, le gouvernement canadien a adopté la Loi canadienne sur la protection de l'environnement (LCPE) afin de disposer d'un moyen d'identifier, évaluer et, ultérieurement, gérer les produits chimiques toxiques [Minsitère de la Justice 1999]. Compte tenu du nombre important de substances chimiques, Santé Canada a développé un programme d'évaluation des substances d'intérêt prioritaire. La première liste de substances d'intérêt prioritaire (LSIP1) datant de 1989 fait état de 44 produits chimiques, produits commerciaux, effluents, déchets et émissions industriels. La seconde (LSIP2), en 1995, concerne 25 autres substances [Health Canada 2004]. Les substances ont été sélectionnées à l'aide d'un système de notation prenant en compte divers critères exprimés sous forme d'indicateurs tels qu'énoncés dans le tableau I.

Tableau I: Indicateurs utilisés pour sélectionner les substances d'intérêt prioritaire au Canada

Type de critères	Critères	Indicateurs
Critère « Toxicité »	Létalité aiguë	DL50 orale, cutanée, inhalée, aquatique
	Phytotoxicité	% croissance/réduction
	Toxicité subchronique et chronique chez les non mammifères	Aquatiques : CL50 ; MATC ; CSENO Terrestre : DSENO
	Toxicité subchronique et chronique chez les mammifères	DSENO orale, inhalée
	Toxicité du développement in utero	DMENO (malformations ou effets autres sur le développement)
	Génotoxicité	In vitro : Indicateurs (échanges de chromatides sœurs, recombinaisons, adduits à l'ADN, morphologie des spermatozoïdes et lésions de l'ADN) et mutations (mutations géniques, aberrations chromosomiques et micronoyaux) In vivo : Indicateurs et mutations des cellules somatiques et germinales
	Cancérogénicité	Classement groupes IARC
Critère « potentiel d'exposition »	Présence dans l'environnement	Concentration dans les compartiments de l'environnement (eau, sol, air, tissus)
		Volume importé ou produit
	Persistance dans l'environnement	Demi-vie dans l'environnement
	Bioaccumulation	Log Kow

En fonction de la valeur numérique de chaque critère, une « note » a été appliquée. La substance est ensuite sélectionnée, c'est-à-dire inscrite dans la liste prioritaire en fonction de sa note. On peut constater que lorsque les données nécessaires à une évaluation sont manquantes ou incomplètes,

des axes de recherche sont établis en fonction de leur nature et de leur priorité avant de se prononcer sur une éventuelle hiérarchisation.

Aux Etats-Unis

Dans le cadre de la loi CERCLA (Comprehensive Environmental Response, Compensation, and Liability Act), l'ATSDR et l'US EPA ont conjointement établi en 1999 une liste nationale de substances prioritaires (NPL : national priority list) [Agency for Toxic Substance and Disease Registry 1999], afin que l'ATSDR publie des profils toxicologiques complets sur les substances jugées prioritaires. Comme au Canada, les substances ont été sélectionnées à l'aide d'un système de scores prenant en compte les critères présentés dans le tableau II.

Tableau II : Critères utilisés pour élaborer la « National Priority List » (USA)

Type de critères	Critères
Critère « Fréquence »	Fréquence de présence de chaque substance dans les sites pollués référencés (base HAZdat pour sols pollués). Un seul compartiment environnemental pollué suffit pour proposer un score.
Critère « Potentiel d'exposition »	Concentrations de la substance dans le milieu environnemental
	Statut d'exposition de la population (son comportement)
Critère « Toxicité »	Toxicité aiguë et chronique
	Cancérogénicité
	Caractéristiques physico-chimiques (réactivité et inflammabilité)
	Toxicité aquatique
	Dégradation de la molécule (hydrolyse photolyse, biodégradation)

Un score pour chacun des trois paramètres est calculé puis la substance est classé selon le score total (addition des trois scores). Le plus haut score correspondant à la substance la plus prioritaire en terme d'action de réduction des risques. Les substances présentes dans moins de trois sites pollués n'ont pas été retenues dans la NPL. Dans la liste fournie en 2003, 863 substances candidates ont été évaluées pour aboutir à la liste finale de 275 substances.

Il existe également dans la littérature scientifique, d'autres propositions de méthodes de hiérarchisation américaines. Ainsi, l'US EPA a proposé en 1994 une méthode appelée Chemical hazard evaluation for management strategies (CHEMS-1). Dans cette méthode, les données d'émissions de substances toxiques au niveau national (« toxics release inventory » et données sur les usages de pesticides) sont mises en perspectives de la toxicité des substances, de leur potentiel d'exposition, et de leur caractère biopersistant et bioaccumulant [US Environmental Protection Agency (US EPA) 1994]. L'objectif est de replacer les données d'émissions des substances chimiques dans une perspective d'évaluation des risques (combinant donc les expositions avec les dangers). Les critères pris en compte sont énoncés dans le tableau III.

Tableau III : Paramètres retenus pour la méthode CHEM-1 (USA)

Type de critère	Critères	Indicateurs
Critère « Effets sanitaires »	Toxicité aiguë orale	DL50 rongeur
	Toxicité aiguë par inhalation	CL50 rongeur
	Cancérogénicité	Classification EPA et IARC
	Toxicité chronique (autre que cancer : mutagenèse, reprotoxicité, neurotoxicité, etc.)	LOAEL et NOAEL
Critère « Effets sur l'environnement »	Toxicité orale aiguë terrestre	DL50 rongeur
	Toxicité orale aiguë aquatique	CL50 poisson
	Toxicité chronique aquatique	NOEL poisson
Critère « Potentiel d'exposition »	Persistance environnementale et potentiel de bioaccumulation	BOD ½ vie, ½ vie d'hydrolyse, BCF
	Quantités utilisées, émises	RWF (release weighting factor) déterminé à partir des quantités annuelles des émissions ou des transferts

Le score final est calculé selon l'algorithme : Score total = (Score "effets sanitaires" + Score "Environnement") × facteur d'exposition. Les scores "effets sanitaires" et "Environnement" correspondent à l'addition des scores de chaque paramètres composite et le facteur d'exposition dépend des valeurs d'hydrolyse, de biodégradation, de bioconcentration et des quantités.

Enfin, Mitchell et al. et Snyder et al. ont proposé en 2000 dans le cadre d'un programme régional une méthode nommée Chemical and Scoring Ranking Assessment Model (SCRAM). Elle a été adaptée à l'étude des polluants prioritaires dans la région des grands lacs américains dans un objectif de gestion. La méthode est fondée sur le calcul d'un index basé sur la toxicité, le potentiel d'exposition et les incertitudes quant à la base de données [Mitchell*, et al.* 2000, Snyder*, et al.* 2000a, b, c, d]. Les principaux paramètres et algorithmes utilisés sont définis dans le tableau IV.

Tableau IV : Paramètres utilisés dans la méthode SCRAM (USA)

Type de critère	Critères	Indicateurs
Critère « Toxicité »	Toxicité aiguë terrestre	ED50 ou LD50 plantes ED50 ou LD 50 oraux chez mammifères, reptiles, oiseaux et invertébrés.
	Toxicité aiguë aquatique	EC50 ou LC50 plantes EC50 ou LC50 chez amphibiens, invertébrés, poissons d'eau chaude et froide.
	Toxicité chronique terrestre	LOAEL ou NOAEL chez les plantes, mammifères, reptiles, oiseaux et invertébrés.
	Toxicité chronique aquatique	MATC, NOEC ou LOEC chez plantes, amphibiens, invertébrés, poissons d'eau chaude et froide.
	Toxicité chronique humaine générale	NOAEL et LOAEL
	Reprotoxicité (reproduction & développement)	NOAEL et LOAEL
	Cancérogénicité	1/ED10, classification cancéro
Critère « Potentiel d'exposition »	Bioaccumulation	BAF ou BCF ou Kow
	Persistance	t½ flore & air & sol & sédiments & eau

En Australie

L'Australie a également développé une méthode de hiérarchisation des substances [Winder et al 1998], pour la mise en place d'un inventaire des polluants au niveau national (National Pollutant Inventory, NPI) en 1992. Les critères d'inclusion sont également fondés sur les dangers pour l'environnement (écotoxicité), les dangers pour l'homme, et les expositions potentielles (tableau V). Les critères relatifs aux dangers sont des critères environnementaux et sanitaires. Un score de 0 à 3 est établi, en fonction des effets et de certaines caractéristiques (effets sévères, moyens, faibles ou négligeables ; persistance et bioaccumulation) pour le critère environnemental, et en fonction des phrases de risque R (toxicité aiguë, chronique, cancérogène, reprotoxique…) pour le critère sanitaire. Les scores sont ensuite cumulés par intégration des valeurs dans une matrice. Enfin, un score lié à l'exposition est appliqué, en fonction des émissions, du type de source, des volumes de production, et du cycle de vie de la substance (son devenir dans l'environnement).

Tableau V : Paramètres utilisés dans la méthode de hiérarchisation des substances en Australie

Type de critère	Critères	Indicateurs
Critère « Toxicité »	Toxicité pour l'environnement (critère environnemental)	Effets sévères, moyens, faibles ou négligeables Persistance et bioaccumulation
	Toxicité pour l'homme (critère sanitaire)	Phrases de risque R (toxicité aigue, chronique, cancérogénicité, reprotoxicité)
Critère « Potentiel d'exposition »	Emissions, type de source	Inventaires nationaux ?
	Quantités	Volumes de production
	Cycle de vie (devenir dans l'environnement)	Demi-vies, comportement de la substance dans les médias, persistance & bioaccumulation, etc.

Le fait de cumuler tous les scores entre eux limite une bonne interprétation des résultats, car, par exemple, un score environnemental de 1 cumulé à un score sanitaire de 3 ne peut pas être interprété de la même façon qu'un score environnemental de 3 cumulé à un score sanitaire de 1.

En Europe

Dans le cadre du règlement 93/793 et afin d'établir des listes de substances prioritaires pour l'évaluation des substances chimiques existantes, l'Union Européenne utilise le dispositif EURAM. Il s'agit de calculer deux scores, l'un concernant l'environnement et l'autre concernant l'homme [Hansen, *et al.* 1999]. Les paramètres utilisés sont rassemblés dans le tableau VI. Une liste de 141 substances ont été sélectionnées jusqu'à aujourd'hui.

Tableau VI : Paramètres utilisés pour l'élaboration des listes de substances prioritaires en Europe

Type de critère	Critères	Indicateurs
Critère « Toxicité » (score pour l'homme)	Toxicité pour l'homme	Phrases de risques R
	Toxicité pour l'environnement	Concentrations dans l'environnement (PEC pour « predicted environmental concentrations ») Concentrations sans effets (PNEC pour « predicted no-effect concentration »)
Critère « Potentiel d'exposition » (score environnemental)	Emissions de substances	Tonnages, productions, importations
	Distribution dans l'environnement	Modèles dépendant des propriétés physico-chimiques
	Dégradation	Dégradation aquatique

Par ailleurs, la Commission Européenne a proposé l'établissement d'une liste de perturbateurs endocriniens prioritaires (cf chapitre 4.3.). Pour publier une telle liste, la commission européenne s'est basée sur l'ensemble des listes déjà existantes et sur une revue de la littérature internationale. Les listes consultées ont été celles de l'Allemagne, la Suède, le Royaume Uni, Greenpeace, WWF, l'OSPAR, l'US EPA, la Norvège, le Japon, le RIVM et le Dutch Health Council.

Une première sélection a permis de retenir les substances hautement persistantes et celles qui avaient un grand volume de production. La deuxième sélection a été réalisée par rapport au niveau de preuves scientifiques concernant les effets perturbateurs endocriniens. Un groupe d'experts a été consulté pour identifier trois catégories :

- Catégorie 1 : au moins une étude fournit la preuve d'une perturbation endocrinienne sur un organisme intact.
- Catégorie 2 : les données in vitro font suspecter une perturbation endocrinienne.
- Catégorie 3 : soit il n'y a pas de fondement scientifique permettant d'inclure ces substances dans la liste, soit il n'y a pas de données.

Une troisième sélection a ensuite été faite tenant compte du potentiel d'exposition des substances (tableau VII).

Tableau VII : Paramètres utilisés par la CE pour prioriser les perturbateurs endocriniens

Type de critère	Critères	Indicateurs
Critère « Toxicité »	Perturbation endocrinienne	Niveau de preuve scientifique (recherche bibliographique) & consultation d'un groupe d'experts
Critère « Potentiel d'exposition »	Substances hautement persistantes	PBT et vPvB (persistant, bioaccumulative and toxic / very persistant and very bioaccumulative)
	Substances ayant un volume de production importante	HPV (high production volume)
	Potentiel d'exposition de la substance	Exposition forte/ moyenne/ faible

Au final, les 553 substances candidates ont été classées dans trois groupes distincts [BKH Consulting Engineers 2000]. 60 de ces substances ont été classées dans le groupe I (volume de production et/ou persistance importante + perturbation endocrinienne et exposition avérées), 55 l'ont été dans le groupe II (volume de production et/ou persistance importante + perturbation endocrinienne suspectée ou

perturbation endocrinienne avérée avec exposition moyenne) et 438 dans le groupe III (volume de production et/ou persistance importante mais absence de données formelles de perturbation endocrinienne ou perturbation endocrinienne avérée mais exposition faible). Notons que les hormones naturelles n'ont pas été prises en compte dans cette sélection.

Enfin, dans le but de protéger, de défendre et de traiter l'eau et face à la nécessité d'élaborer une politique communautaire intégrée dans le domaine de l'eau, la Commission Européenne a établit la Directive communautaire de l'eau 2000/60/CE du 23 octobre 2000 visant au maintien et à l'amélioration de l'environnement aquatique en contribuer à la réduction progressive des rejets de substances dangereuses dans l'eau.

L'identification des substances prioritaires tient compte du principe de précaution, et se fonde sur une identification des dangers ainsi qu'une évaluation du risque liée à l'exposition au travers de l'eau. Les substances prioritaires ont été sélectionnées parmi celles qui présentent un risque significatif pour ou via l'environnement aquatique selon 3 otpions :

- une évaluation du risque conforme au Règlement 93/793, aux Directives 91/414/CEE et 98/8/CE, ou
- une évaluation du risque ciblée sur l'écotoxicité aquatique et sur la toxicité pour l'homme via l'environnement aquatique, ou
- une procédure simplifiée d'évaluation du risque, fondée sur les dangers des substances, les données de surveillance ainsi que les volumes de production, modes d'utilisation, etc.

La seule de ces 3 options qui soit réalisable dans un délai raisonnable est celle qui prévoit une « procédure simplifiée d'évaluation des risques », tenant compte des dangers liés aux substances et de l'exposition pour les écosystèmes, d'après les données provenant de la surveillance et de la modélisation.

Tableau VIII : Paramètres utilisés par la CE pour prioriser les substances de la Directive cadre eau

Type de critère	Critères	Indicateurs
Critère d'exposition	Estimation de l'exposition de la population	Substances issues des listes officielles et programmes de surveillance des eaux superficielles et des sédiments (concentrations dans les eaux superficielles et les sédiments)
		Liste des métaux
Critère de toxicité	Effets écotoxicologiques sur les organismes aquatiques	Indices de toxicité aquatique
		Bioaccumulation
	Effets sur la santé humaine	Indices de toxicité humaine

L'évaluation des risques n'a été réalisée que sur les substances possédant suffisamment de données. Un jugement d'experts a permis d'établir la sélection finale des substances prioritaires. A partir des différents classements une première liste de 32 substances prioritaires a été déterminée.

En France

Il n'existe pas de programme français de hiérarchisation des substances. Cependant, un groupe d'experts instauré en 1992 par les ministres de l'agriculture, de l'environnement et de la santé, a cherché à établir, pour la surveillance des eaux, un classement hiérarchique des substances phytosanitaires, par rapport à la possibilité de les surveiller en priorité. Huit critères pour le classement des substances ont été défini et sont réunis dans le tableau IX [Bonan et Prime 2001]. Les scores sont calculés à partir de ces critères grâce à la méthode SIRIS (système d'intégration des risques par interaction de scores) [Vaillant*, et al.* 1995].

Tableau IX : Variables principales utilisées pour la hiérarchisation des phytosanitaires [Vaillant, *et al* 1995]

TYPE DE CRITERES	CRITERES	INDICATEURS
CRITERES D'EXPOSITION	AFFINITE POUR LE SOL	COEFFICIENT DE PARTAGE CARBONE ORGANIQUE/ EAU : KOC
	PERSISTANCE DANS LE SOL	DEMI-VIE DT50
	STABILITE DANS L'EAU	VITESSE D'HYDROLYSE
	ETENDUE DE L'USAGE	SURFACES DEVELOPPEES TRAITEES
	INTENSITE D'USAGE	DOSE A L'HECTARE
	HYDROSOLUBILITE	-
CRITERES DE TOXICITE	TOXICITE POUR L'HOMME	DJA (DOSE JOURNALIERE ADMISSIBLE)
	ECOTOXICITE POUR LES ORGANISMES AQUATIQUES	CONCENTRATIONS LETALES POUR LES ALGUES, LES DAPHNIES OU LES POISSONS

Par ailleurs, R. Vincent et F. Bonthoux (2000) ont proposé une méthode de hiérarchisation des risques potentiels dans l'entreprise pour les substances chimiques, dans le but d'améliorer, par un meilleur ciblage, les moyens de prévention. Ils ont défini des catégories pour chacune des substances recensées dans l'entreprise, à partir de classes de danger, de fréquence d'exposition, et de quantités utilisées. Les classes sont définies sur la base de données qualitatives. Pour les dangers, 5 classes ont été sélectionnées selon l'étiquetage et les phrases de risque. De même, 4 classes ont été identifiées selon la fréquence d'utilisation, et 5 classes selon les quantités utilisées (tableau X).

Sur la base de ces classes, les scénarios ont été soumis à des experts pour qu'ils se prononcent sur la priorité à considérer en fonction des classes (priorité élevée, moyenne ou faible). Cette méthode a permis de classer les substances et produits utilisés dans l'entreprise en trois catégories de priorités (élevée, moyenne et faible), à partir de la méthode SIRIS.

Tableau X : Indicateurs utilisés pour hiérarchiser les substances en milieu du travail [Vincent et Bonthoux, 2000]

TYPE DE CRITERES	CLASSE	INDICATEURS
CLASSES DE DANGER	I	PRODUIT NON SOUMIS A ETIQUETAGE, PAS DE TOXICITE PARTICULIERE ; PAS DE PHRASES DE RISQUE
	II	PRODUIT IRRITANT OU PRODUIT SANS ETIQUETAGE, MAIS POUR LEQUEL IL EXISTE UNE VLEP ; R36, R37, R38
	III	PRODUIT NOCIF ; R20, R21, R22
	IV	PRODUIT TOXIQUE, SENSIBILISANT OU CORROSIF ; R23, R24, R25, R29, R31, R34, R35, R40, R41, R42, R43
	V	PRODUIT TRES TOXIQUE, CANCEROGENE, EFFETS SUR LA REPRODUCTION, ETC. ; R26, R27, R28, R32, R33, R39, R45, R46, R47, R48, R49, R60, R61, R62, R63, R64
CLASSES DE FREQUENCE D'UTILISATION	I	OCCASIONNELLE : QUELQUES JOURS PAR AN
	II	PONCTUELLE : QUELQUES JOURS PAR MOIS OU QUELQUES SEMAINES PAR AN
	III	DISCONTINUE : QUELQUES JOURS PAR SEMAINE OU QUELQUES MOIS PAR AN
	IV	CONTINUE : TOUS LES JOURS, TOUTE L'ANNEE
CLASSES DE QUANTITES UTILISEES	I	NEGLIGEABLE
	II	FAIBLE
	III	MOYENNE
	IV	IMPORTANTE
	V	TRES IMPORTANTE

Enfin, l'Observatoire de la qualité de l'air Intérieur a proposé en 2002 une hiérarchisation des substances à prendre en compte pour la mesure de la qualité de l'air dans les bâtiments [Mosqueron et Nedellec 2002]. Cette hiérarchisation avait pour principal objectif d'optimiser les coûts de la campagne de mesures programmée en 2003 sur l'ensemble du territoire national. La liste des substances incluses dans la hiérarchisation a été préalablement définie en fonction des recommandations de groupes d'experts pluridisciplinaires. La construction d'un indice de hiérarchisation pour chaque substance a pris en compte les effets sanitaires liés à une exposition aiguë, à une exposition chronique, ainsi que la fréquence à laquelle les substances pouvaient être retrouvées dans les bâtiments. Les critères sont réunis dans le tableau X.

Tableau XI : Critères de hiérarchisation sanitaires retenus par l'Observatoire de la qualité de l'air intérieur [Mosqueron et Nedellec, 2002]

TYPE DE CRITERES	CRITERES	INDICATEURS
CRITERES D'EXPOSITION	POTENTIEL D'EXPOSITION	CONCENTRATIONS DANS LES BATIMENTS
		FREQUENCE DE PRESENCE DES SUBSTANCES
CRITERES DE TOXICITE	TOXICITE AIGUË POUR L'HOMME	VTR AIGUË
	TOXICITE CHRONIQUE POUR L'HOMME	CLASSIFICATION CANCEROGENE
		VTR CHRONIQUE

L'indice de hiérarchisation nommé IH a été calculé selon l'algorithme $IH = I_A + I_C + I_F$ ou

$IH = \frac{C_{\text{int}}}{VTR_{aiguë}} + I_K + \frac{C_{\text{int}}}{VTR_{chronique}} + I_F$ Avec I_A : indice de toxicité aiguë ; I_C : indice de toxicité chronique ;

C_{int} : concentrations dans les bâtiments (P95) ; I_K : indice de cancérogéncicté ; I_F : indice de fréquence.

3.1.1.2. discussion

Le tableau XI rapporte les principales méthodes de hiérarchisation par attribution de scores, leurs objectifs et les critères utilisés. Les critères intervenant dans la décision de juger une substance comme prioritaire sont associés aux notions de toxicité et de possibilité d'exposition de la population. Ces critères sont très similaires d'une méthode à l'autre. En revanche, les indicateurs associés à ces critères sont nombreux et varient généralement, du plus complexe au plus simple, en raison de la disponibilité des informations et des délais nécessaires pour les obtenir.

Les critères de toxicité habituellement retenus sont globalement très généraux, plusieurs méthodes utilisant même uniquement les phrases de risque R (indications générales sur le type de toxicité d'une substance). Ces critères de toxicité auront, d'une manière générale, peu d'influence sur la hiérarchisation des substances reprotoxiques car la liste de substances candidates proposée dans ce document a déjà été établie à partir de leur potentialité à entraîner des effets reprotoxiques. En revanche, il pourrait être envisagé de retenir certains indices de toxicité comme les LOAEL qui permettent, couplés à la notion de quantité, de hiérarchiser les substances les unes par rapport aux autres.

Par ailleurs, la notion de potentiel d'exposition semble particulièrement importante. Les paramètres reflétant la possibilité d'exposition de la population sont donc couramment divisés en deux catégories :

- Ceux intrinsèques à la substance : il s'agit des propriétés physico-chimiques qui conditionnent le devenir de la substance dans l'environnement (volatilité, solubilité dans l'eau, coefficients de répartition…) et son potentiel de bioaccumulation ;
- Ceux qui dépendent de l'utilisation humaine (passée ou présente) : il s'agit soit des concentrations environnementales dans les médias auxquels l'homme peut être en contact (aliments, eau, air extérieur ou intérieur…), soit des quantités circulantes dans le pays ou la région concernée (tonnage, volumes de production, importation, vente, utilisation…).

Dans les méthodes étudiées, les paramètres les plus couramment utilisés (dans plus de 50% des méthodes) sont, comme le montre le tableau XII : i) les concentrations environnementales ; ii) les volumes produits, importés, tonnages et/ou utilisations ; iii) les demi-vies dans l'environnement et iv) la capacité de bioaccumulation (ou Log_{Kow}).

Tableau XII : Critères de toxicité et d'exposition dans les méthodes de hiérarchisation par attribution de scores

Pays	Programme	Ampleur	Critères de toxicité	Critères d'exposition	Nombre de substances
Canada	LSIP	National	- Létalité aiguë - Phytotoxicité - Toxicité subchronique et chronique chez non mammifères - Toxicité subchronique et chronique chez les mammifères - Toxicité du développement in utero - Génotoxicité et cancérogénicité	- Présence dans l'environnement - Persistance dans l'environnement - Bioaccumulation	69
Etats-Unis	NPL	National	- Toxicité aiguë et chronique - Cancérogénicité - Caractéristiques physico-chimiques (réactivité et inflammabilité) - Toxicité aquatique - Dégradation de la molécule (hydrolyse photolyse, biodégradation)	- Fréquence de présence de chaque substance dans les sites pollués référencés - Concentrations de la substance dans le milieu environnemental - Statut d'exposition de la population (son comportement)	275
Etats-Unis	CHEM-1	National	- Toxicité aiguë orale et par inhalation - Cancérogénicité - Toxicité chronique autre que cancer : mutagenèse, reprotoxicité, neurotoxicité, etc. - Toxicité orale aiguë terrestre et aquatique - Toxicité chronique aquatique	- Persistance environnementale - Potentiel de bioaccumulation - Quantités utilisées, émises	?
Etats-Unis	SCRAM	Local	- Toxicité aiguë terrestre, aquatique - Toxicité chronique terrestre, aquatique - Toxicité chronique humaine générale - Reprotoxicité (reproduction & développement), cancérogénicité	- Bioaccumulation - Persistance	?
Australie		National	- Toxicité pour l'environnement (critère environnemental) - Toxicité pour l'homme (critères sanitaire)	- Emissions, type de source - Type de sources - Quantités - Cycle de vie de la substance (devenir dans l'environnement)	55
Europe	Règlement 93/793	Européen	- Toxicité pour l'homme : phrases de risque - Toxicité pour l'environnement	- Emissions de substances - Tonnages, productions, importations - Distribution dans l'environnement - Dégradation aquatique	141
Europe	Priorités recherche ED	Européen	- Niveau de preuves d'une perturbation endocrinienne chez l'homme ou l'animal	- Substances hautement persistantes - Substances ayant un volume de production importante - Potentiel d'exposition de la substance	60
Europe	Directive cadre eau	Européen	- Effets écotoxicologiques sur les organismes aquatiques - Effets sur la santé humaine	- Estimation des expositions de la population (démarche ERS)	32
France	Classement des phytosanitaires	national	- Toxicité pour l'homme - Ecotoxicité pour les organismes aquatiques	- Affinité pour le sol - Persistance dans les sols - Stabilité dans l'eau - Etendue de l'usage - Intensité de l'usage - Hydrosolubilité	
France	OQAI mesures	national	- Toxicité aiguë pour l'homme (VTR aiguë) - Toxicité chronique pour l'homme (cancérogénicité & VTR chronique)	- Concentrations dans les bâtiments - Fréquence de présence	

Tableau XIII : Paramètres d'exposition pris en compte dans les systèmes de hiérarchisation étudiés

Paramètres pris en compte pour le potentiel d'exposition	Nombre de système utilisant ce paramètre - %
Concentrations dans les compartiments de l'environnement	5 - 56%
Volumes produits, volumes importés, tonnages, restrictions, utilisations	7 – 78%
Solubilité, inflamabilité, coefficient de partage …	4 – 44%
Demi-vies environnementales	5 – 56%
Vitesse d'hydrolyse, dégradation aquatique	2 – 22%
Facteur de bioconcentration	3 –33%
Facteurs de bioaccumulation ou LogKow	6 – 67%
Fréquence de présence de la substance dans des sites pollués	3 – 33%
Statut ou niveaux d'exposition de la population	2 – 22%

Les méthodes de hiérarchisation par attribution de scores semblent être des méthodes pertinentes pour hiérarchiser des substances à un niveau national. Toutefois, appliquer une méthode de hiérarchisation par attribution de scores sur les 445 substances de la liste candidate, compte tenu des critères et indicateurs pertinents à collecter, paraît difficilement réalisable. L'idée retenue est de faire une hiérarchisation préalable moins complexe, suivie d'une sélection sur des critères plus fins.

3.1.2. Sélections spécifiques

Il existe d'autres méthodes de sélection qui ne sont pas fondées sur une attribution de scores composant le risque (combinaison d'un danger et d'une exposition) mais sur des critères uniques ou spécifiques d'une situation particulière.
C'est le cas par exemple de la liste de substances HPV de l'OCDE qui recense toutes les substances produites ou importées à plus de 1000 tonnes par an, ou la liste de substances de la Convention de Rotterdam qui ne s'intéresse qu'aux substances très toxiques.

3.1.2.1. Les substances prioritaires de l'OCDE

Dans le cadre de son programme sur l'investigation des substances chimiques existantes, l'OCDE répertorie sur son site Internet l'ensemble des substances chimiques produites ou importées en grandes quantités (« HPV » pour High Production Volume), c'est-à-dire à plus de 1000 tonnes par an. Ces substances font l'objet d'une évaluation détaillée avec publication de profils toxicologiques et d'une évaluation des risques. Les éléments essentiels à l'évaluation des substances sont réunis dans une base de données (SIDS pour Screening Information Data Set) qui permet de déterminer si des investigations toxicologiques supplémentaires sont nécessaires (dans ce cas demandées à l'industrie). La liste des substances HPV a été revue en 2000 et comporte 5235 substances.

3.1.2.2. La convention de Rotterdam

La Convention de Rotterdam a pour but d'encourager le partage des responsabilités et la coopération dans le domaine du commerce international de certains produits chimiques dangereux, afin de

protéger la santé de l'homme et l'environnement. Elle s'applique aux produits chimiques interdits et strictement réglementés ainsi qu'aux préparations pesticides extrêmement dangereuses[7]. Actuellement, 73 pays ont ratifié cette convention.

Les articles 5, 6 et 7 de ladite Convention fixent les procédures applicables aux produits chimiques interdits ou strictement réglementés et aux préparations pesticides extrêmement dangereuses ainsi que l'inscription des produits à l'annexe III. La Convention couvre actuellement 22 pesticides dangereux et 5 produits chimiques industriels.

3.1.2.3. Les substances prioritaires du RIVM

Une série de composés chimiques ont été évalués par le RIVM entre 1991 et 1993 puis mis à jour en 1999-2000 dans le cadre d'un projet sur les valeurs d'intervention pour la réhabilitation des sols. Les substances chimiques sélectionnées l'ont été en fonction de leur présence dans les sols. 70 composés sont aujourd'hui concernés.

3.1.3. Sélection à partir de propositions d'experts

Dans le but de sélectionner une liste de substances pour une analyse plus approfondie et généralement dans le cadre d'une hiérarchisation, certains organismes ou groupes d'experts proposent ce qu'ils désignent comme la « nomination » de substances par les tiers.

3.1.3.1. Description

Cette nomination est fondée sur des propositions de différentes parties. Plusieurs organismes proposent ce type de méthode de pré sélection. Les nominations effectuées au CERHR, au NTP et à l'OEHHA sont ici brièvement décrites afin de comprendre si leur utilisation peut être envisagée pour les substances reprotoxiques.

Le NTP (National Toxicology Program), qui cordonne les études toxicologiques et développe de nouvelles méthodes pour fournir des informations pertinentes sur la toxicité des substances, sollicite constamment la suggestion, par les tiers, de substances chimiques pour les études toxicologiques à venir. Ces propositions proviennent des agences fédérales, du public, et des autres parties intéressées et subissent ensuite plusieurs niveaux d'analyse par un comité du NTP, l'ICCEC (Interagency Committee for Chemical Evaluation and Coordination), qui est composé de représentants de l'ATSDR, de la CPSC (Consumer Product Safety Commission), du département de la défense, de l'EPA (Environmental Protection Agency), de la FDA (Food and Drug Administration), du NCTR, des NCI (National Cancer Institute), NIEHS (National Institute of Environmental Health Science), NIOSH

---

[7] Selon la Convention de Rotterdam, un produit chimique interdit s'entend d'un produit chimique dont tous les emplois entrant dans une ou plusieurs catégories ont été interdits par une mesure réglementaire finale afin de protéger la santé des personnes ou l'environnement. Un produit chimique strictement réglementé s'entend d'un produit chimique dont pratiquement tous les emplois entrant dans une ou plusieurs catégories ont été interdit par une mesure réglementaire finale afin de protéger la santé des personne ou l'environnement, mais pour lequel certaines utilisations précises demeurent autorisées. Une préparation pesticide extrêmement dangereuse s'entend d'un produit chimique préparé pour être employé comme pesticides et ayant sur la santé ou sur l'environnement, dans les conditions dans lesquelles il est utilisé, de graves effets qui sont observables peu de temps après une exposition unique ou répétée.

(National Institute of Occupational Safety and Health), NLM (National Library of Medicine) et OSHA (Occupational Safety and Health Administration).

Par ailleurs, le NTP et le NIEHS ont mis en place en 1998 le CERHR (Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction) dans le but d'accroître les ressources disponibles en santé environnement pour venir en aide aux gestionnaires, aux agences sanitaires, et pour répondre aux questions posées par le public. Ce centre fournit des évaluations scientifiques sur les effets lies à la reproduction et au développement causés par des agents chimiques auxquels l'homme peut être exposé. Ces évaluations sont réalisées à partir de la littérature scientifique par des experts indépendants. La suggestion de substances chimiques qui seront évaluées par le CERHR se fait conjointement par la communauté publique et scientifique, incluant ainsi les industriels, les administrations et gouvernements, les universitaires et les autres scientifiques, les associations environnementales, les citoyens. Les propositions doivent être accompagnées d'une justification (raisons pour lesquelles la substance est proposée) et, autant que possible, des informations scientifiques appropriées et des références bibliographiques.

Enfin, l'OEHHA de l'EPA de Californie a établi un comité « DART (Developmental and Reproductive Toxicant) Identification Committee », qui identifie les substances chimiques à ajouter dans la liste des reprotoxiques issue de la Proposition 65. Ce comité, composé d'experts indépendants, détermine si les substances sont effectivement des reprotoxiques, au travers des résultats d'études toxicologiques. Les sources principales d'implémentation de la liste sont : i) la recherche dans la littérature (scientifique, CCRIS, bases de données sur les pesticides, publications du DART, autres) ; ii) les suggestions du comité SAB (Science Advisory Board) ; iii) les suggestions d'autres organismes de l'état ; iv) les suggestions du public ; v) les suggestions de la communauté scientifique. Des éléments justifiant les suggestions sont apportés conjointement aux propositions de substances (y compris les références bibliographiques pertinentes). Les substances sont ensuite incluses dans une base de données en y reportant un certain nombre d'informations (la date et la source de la suggestion, commentaires sur les études épidémiologiques, les résultats de tests toxicologiques, les données sur l'utilisation, la production, et toute autre information pouvant se révéler importante pour caractériser les expositions).

3.1.3.2. Discussion

Cette nomination semble intéressante afin de guider certains choix qui s'avéreraient pertinents et dans le but de mettre en place à terme une veille scientifique pérenne sur le sujet. Une discussion peut ensuite être engagée au sein du groupe de travail pour valider les propositions.

3.2. Approche de hiérarchisation des substances reprotoxiques

Cette étape de hiérarchisation est un préalable à l'identification de substances pour lesquelles une analyse complète des VTR sera effectuée et pour lesquelles l'AFSSET pourrait à terme proposer la construction ou le choix de VTR.

L'analyse des VTR préexistantes permettra également de définir des critères de qualité pour le choix d'une VTR reprotoxique (dans le cas des substances possédant plusieurs VTR), puis pour la construction de VTR reprotoxiques (pour celles n'en possédent pas).

Au total, 445 substances ont été identifiées comme potentiellement reprotoxiques. Appliquer une méthode de hiérarchisation par application de scores sur l'ensemble des substances de la liste candidate, compte tenu des critères et indicateurs pertinents à collecter (tonnages, indices LOAEL et NOAEL, BCF, etc.), et de la masse d'informations à exploiter, ne semble pas réalisable dans le temps imparti.

La méthode plutôt retenue est de réaliser une hiérarchisation à l'aide de méthodes moins complexes, utilisant des critères facilement disponibles. La méthode pourra dans un deuxième temps être améliorée en fonction des connaissances du moment et pour hiérarchiser au mieux les substances pour lesquelles des VTR devront être disponibles.

Dans ce cadre, il a été proposé de hiérarchiser les substances en fonction des composantes du risque, c'est-à-dire en tenant compte de critères indirects de danger et d'exposition. Ainsi, la hiérarchisation s'opère par rapport à la pertinence des sources de données liées à la reprotoxicité (pour le danger), puis par rapport à leur mention dans les listes prioritaires nationales ou internationales qui mentionnent le critère d'exposition. Enfin, pour mieux cibler les intérêts de santé publique mis en évidence sur le territoire français, une veille sera mise en place et des recommandations seront issues du groupe de travail sur des substances ou catégories de substances qu'il juge pertinentes. Cette veille concernera les préoccupations nationales ainsi que les propositions d'experts dans leurs champs d'activités.

3.2.1. L'importance et la pertinence des sources de données

Une hiérarchisation peut être opérée à partir de la liste des substances candidates, en fonction des sources d'information utilisées. Elles correspondent au critère de « danger » spécifique à la reprotoxicité. Finalement, les sources de données retenues sont :

- la liste des substances classées « CMR reprotoxiques de catégorie 1, 2 & 3 » (Bureau européen des produits chimiques ECB) ;
- la liste des substances potentiellement reprotoxiques imposée par la proposition 65 (OEHHA) ;
- la liste du CERHR ;
- la liste des perturbateurs endocriniens reprotoxiques du CDC évalués par Choi et al. ;
- la liste du PEC (EPA Californie) ;

- la liste des substances possédant au moins une VTR reprotoxique (base IRIS, ATSDR, Health Canada, OEHHA, RIVM, OMS).

La liste de perturbateurs endocriniens de la Commission Européenne a été supprimée du score danger car elle apparaît dans le score exposition.

A partir de ces informations, un score « danger » global a été calculé en pondérant les scores de chaque source en fonction de l'importance qu'on a voulu leur accorder. Ainsi, une importance maximale a été donnée aux substances classées CMR reprotoxiques de catégorie 1 & 2 (score = 6), puis aux substances CMR reprotoxiques de catégorie 3 (score = 3), enfin un score moindre pour les autres listes qui ne sont pas CMR (score = 2). Lorsque les substances ne sont pas dans les listes, leur score est égal à zéro. Pour la disponibilité de VTR, un score 1 est appliqué s'il existe au moins une VTR reprotoxique, un score 0 est appliqué s'il n'y a pas de VTR reprotoxiques. Ainsi :

Score Danger = score (CMR) + score (P65) + score (CDC) + score (PEC) + score (CERHR) + score (VTR).

3.2.2. <u>Hiérarchisation en fonction des priorités déjà établies</u>

Un certain nombre de listes prioritaires de substances chimiques, à un niveau national ou international, sont déjà établies. Elles sont issues des éléments méthodologiques expliqués dans le chapitre 1.2. et tiennent compte déjà, pour la plupart, de paramètres illustrant le potentiel d'exposition de la population (à un niveau national, ou international). Elles sont donc en ce sens une source intéressante de données pour la priorisation des reprotoxiques.

Ces listes sont au nombre de 8. On a recensé :

- la liste prioritaire NPL de l'EPA et ATSDR (Etats-Unis) ;
- la liste prioritaire de l'ECB (Europe) ;
- la liste des perturbateurs endocriniens de la Commission Européenne (Europe) ;
- la liste de la Directive cadre eau de la commission européenne (Europe) ;
- les listes prioritaires LSIP1&2 de Health Canada (Canada) ;
- la liste prioritaire du RIVM (Pays-Bas) ;
- la liste prioritaire du NHMRC (Australie) ;
- la liste prioritaire des substances « HPV » (high production volume) de l'OCDE ;

La liste des substances de la Convention de Rotterdam citée au chapitre II.2.2 a été retirée de ce score car le potentiel d'exposition n'intervient pas dans la sélection des substances.

Le tableau XIV identifie pour chaque méthode de hiérarchisation les objectifs et les paramètres utilisés pour le critère lié à l'exposition.

Tableau XIV : Paramètre d'exposition pris en compte selon les méthodes de hiérarchisation

Institution	Type de programme et objectif	Méthode générale	Paramètres rendant compte du potentiel d'exposition	Année
OCDE	Investigation de substances chimiques existantes	PAS D'ATTRIBUTION DE SCORES (SPECIFIQUE AUX TONNAGES)	HPV	2000
ECB	Evaluation & réduction des risques des substances existantes	ATTRIBUTION DE SCORES	distribution, propriétés physico chimiques, dégradation aquatique, tonnage, importation et utilisations	2000
CE	Directive Cadre Eau. Réduction des substances dangereuses dans les eaux	ATTRIBUTION DE SCORES	production, volumes utilisés, modes d'utilisation, surveillance et contamination écologiques	2001
CE (BKH)	Priorités de recherche pour évaluer le rôle des molécules dans les mécanismes de perturbation endocrinienne	ATTRIBUTION DE SCORES	persistance et/ou HPV, QSAR, concentrations environnementales et dans les aliments, transferts dans l'environnement	2000
Santé Canada	Evaluation puis réduction des risques	ATTRIBUTION DE SCORES	concentrations dans l'environnement propriétés physico-chimiques, volumes importés ou produits, persistance et bioaccumulation	1989-1995
ATSDR & USEPA	Rédaction de profils toxicologiques et documents supports	ATTRIBUTION DE SCORES	fréquence de l'occurrence des substances dans les sites pollués référencés, concentrations environnementales, statut d'exposition.	2003
NICNAS Australie	Evaluation puis réduction des risques	PAS D'ATTRIBUTION DE SCORES	propriétés physico-chimiques, volumes de production, utilisation	2003
RIVM Pays-Bas	Elaboration de valeurs d'intervention pour la réhabilitation des sols	PAS D'ATTRIBUTION DE SCORES	Présence dans les sols des sites pollués aux Pays Bas	1991-2000

Le score lié à ces listes prioritaires correspond au total du nombre de citations dans ces listes (plus une substance est citée, plus elle aura un poids important). De la même façon que pour les sources de données, une plus grande importance a été donnée aux listes européennes puis internationales par pondération des scores, afin de tenir compte des éventuelles disparités géographiques. Ainsi, un score de 2 est donné aux priorités européennes (ECB, BKH et CE) et internationales (OCDE) puis un score de 1 est donné aux priorités des autres pays (Etats-Unis, Canada, Australie, RIVM). Lorsque les substances n'appartiennent à aucune liste, leur score est égal à zéro. Ainsi :

Score « exposition » = score (OCDE) + score (ECB) + score (BKH) + score (CE) + score (Canada) + score (Etats-Unis) + score (Australie) + score (RIVM)

3.2.3. Calcul du score total

Chacune des 445 substances se voit attribuer un score de danger et un score d'exposition. Ces deux scores représentent d'une manière simplifiée les deux paramètres du risque. Afin de totaliser un score tenant compte au mieux des aspects de santé publique, il convient de pondérer ces deux scores de danger et d'exposition afin qu'ils aient une importance relative similaire.

Le score total correspond alors au produit des scores danger et exposition, rapportés à une même échelle de valeurs. Ainsi :

Score TOTAL = [score « danger »] × [« score exposition »]$^{Ln(17)/Ln(13)}$

En effet, une approche classique en présence de deux critères de cette nature, est de raisonner sur le produit (danger × probabilité d'exposition), défini comme le risque. Un problème particulier apparaît cependant lors de l'utilisation du produit : l'existence de données censurées (un des scores égal à zéro) qui, bien que ne représentant pas une absence de danger ou d'exposition pour les substances correspondantes, les classent automatiquement en fin de liste. Afin de pallier cet inconvénient, il est proposé :

- d'attribuer un score minimum de 1 à toutes les substances pour les deux critères exposition et danger,
- d'augmenter ce score de 1 si celui-ci n'est pas nul. Au final, les scores seraient donc respectivement sur 17 et 13 points maximum (au lieu de 16 et 12).

Les principales différences sont mises en évidence dans le tableau XV ci-après, qui regroupe :

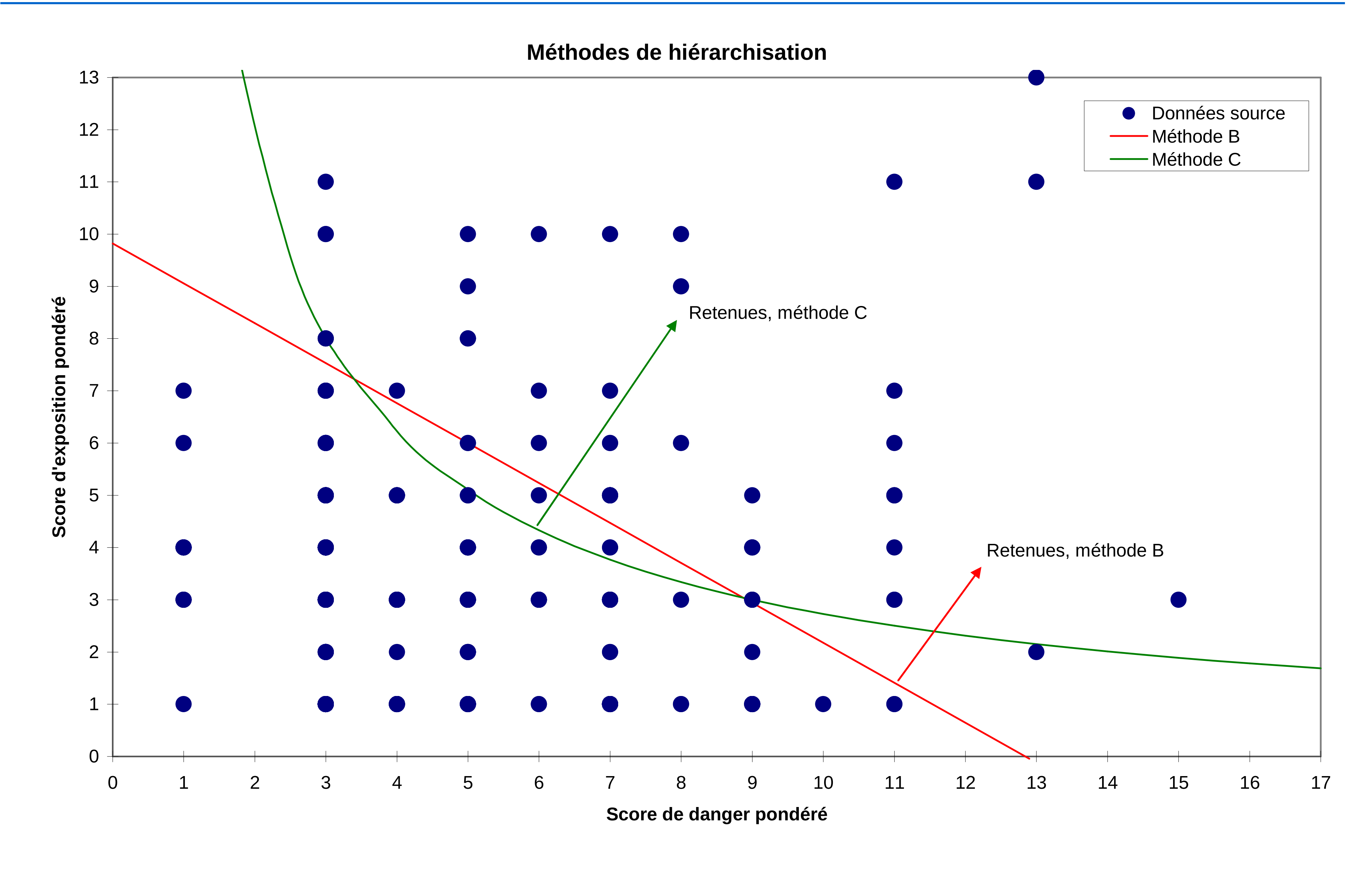
- la méthode de la somme pondérée utilisée jusqu'à présent mais limitée aux deux critères danger et exposition (méthode A),
- la méthode du produit pondéré avec les scores remontés d'une unité (méthode C).

*** *(la méthode B est la somme des scores mais remontés d'une unité, elle a servi pour la construction du graphique uniquement)*

L'annexe 2 présente la liste des cinquante premières substances avec leurs scores de hiérarchisation.

Tableau XV : Classement des cinquante premières substances selon les méthodes proposées

Classement	Méthode A	Méthode C
1	Phtalate de di(2-ethylhexyl)	Phtalate de di(2-ethylhexyl)
2	Phtalate de benzyle et de butyle	Phtalate de benzyle et de butyle
3	Phtalate de dibutyle	Phtalate de dibutyle
4	Cadmium	Cadmium
5	Plomb	Plomb
6	Hexachlorobenzène	Toluène
7	Toluène	Hexachlorobenzène
8	Phénol, nonyl-	Ethylène glycol éthyléther
9	Bénomyl	Phénol, nonyl-
10	Ethylène glycol éthyléther	Ethylène glycol éthyléther, acétate
11	Benzène	Linuron
12	Styrène	Vinclozoline
13	Ethylène glycol éthyléther, acétate	Benzène
14	Linuron	Dichloro-diphényl-trichloro-éthane, p-p'-
15	Vinclozoline	Disulfure de carbone
16	Hexachlorocyclohexane gamma- (lindane)	Hexachlorocyclohexane gamma- (lindane)
17	Ethylène glycol méthyléther	Nitrofène
18	Dichloro-diphényl-trichloro-éthane, p-p'-	Bisphénol A
19	Chloroforme	Ethylène glycol méthyléther
20	Nickel	2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-p-dioxine
21	Disulfure de carbone	N,N-diméthylformamide
22	Dibromo-3-chloropropane, 1,2-	Bénomyl
23	Dichlorobenzène, 1,4-	Dichlorobenzène, 1,4-
24	Atrazine	Atrazine
25	Butadiène, 1,3-	Butadiène, 1,3-
26	Nitrofène	Dinitrotoluène, 2,4-
27	Bisphénol A	Styrène
28	2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-p-dioxine	Monoxyde de carbone
29	N,N-diméthylformamide	Plomb, jaune de sulfochromate de
30	Ethylène glycol méthyléther, acétate	Plomb, chromate de
31	Dinosèbe	Benzo[a]pyrène
32	Monoxyde de carbone	Mercure
33	Plomb, jaune de sulfochromate de	Pentachlorophénol
34	Plomb, chromate de	Chromate de sodium
35	Dinitrotoluène, 2,4-	Dichromate de potassium
36	Trichloroéthylène	Dichromate d'ammonium
37	Phénol	Oxyde de diphényle, dérivé octabromé
38	Tétrachloroéthylène	Chloroforme
39	Benzo[a]pyrène	Nickel
40	Mercure	Ethylène glycol méthyléther, acétate
41	Pentachlorophénol	Dinosèbe
42	Chromate de sodium	Endosulfan
43	Dichromate de potassium	Maneb
44	Dichromate d'ammonium	Cadmium, oxyde de (en poudre stabilisée)
45	Oxyde de diphényle, dérivé octabromé	Chrome, trioxyde de
46	Chrome, trioxyde de	Trichloropropane, 1,2,3-
47	Endosulfan	Ethylène, dibromure de
48	Maneb	Bromopropane, 1-
49	Bromopropane, 1-	Plomb, rouge de chromate, de molybdate et de sulfate de
50	Plomb, rouge de chromate, de molybdate et de sulfate de	Nickel, carbonyle


Méthodes de hiérarchisation
Données source
Méthode B
Méthode C
Retenues, méthode C
Retenues, méthode B
Score d'exposition pondéré
Score de danger pondéré
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17

3.2.4. Limites

Cette méthode simple de hiérarchisation des substances reprotoxiques a été conçue pour permettre l'indentification de substances sur lesquelles l'analyse de VTR pourrait être conduite, dans le but de développer une méthode de construction et de choix de VTR reprotoxiques.

Elle est fondée sur des critères relatifs au risque, habituellement retenus par de nombreux organismes ou institutions ayant déjà réalisé une hiérarchisation. En effet, le groupe de travail a initialement basé son analyse sur un fond documentaire regroupant un certain nombre de méthodes de hiérarchisation déjà existantes dans d'autres pays ou au niveau international.

Cette méthode a présenté de nombreuses difficultés et impasses d'ordre méthodologique, notamment du fait de l'absence de données suffisantes (indicateurs d'exposition pas toujours pertinents) et d'un manque de moyens pour effectuer la démarche (notamment pour l'analyse des relations dose-effet). De ce fait, un certain nombre de limites ont été pointées du doigt.

Bien que l'ensemble des sources utilisées pour la hiérarchisation tienne compte de paramètres de danger et d'exposition (composant le risque), ceux-ci sont donnés à titre indicatif et la plupart du temps d'une manière implicite.

Par exemple, si le score « danger » tient compte de la présence de la substance dans des listes de reprotoxiques, le caractère avéré de ce danger reprotoxique et la sévérité de l'effet ne sont pas relaté.

De même, pour l'exposition, si on a tenu compte d'une manière implicite des facteurs de bioconcentration des substances, de leur persistance dans l'environnement, ou des volumes de production, les concentrations environnementales (qualitatives et quantitatives) ne sont que peu représentées, et encore moins les expositions réelles de la population.

Par ailleurs, étant donné que les indicateurs pris en compte l'ont souvent été dans plusieurs sources retenues, ou que certaines sources sont dépendantes d'autres également prises en compte, il existe un biais non négligeable de hiérarchisation.

Par exemple, lorsque une substance est dans la liste P65 de Californie, une VTR reprotoxique est élaborée par l'OEHHA, ainsi la substance peut se retrouver avec un score de danger élevé (score OEHHA + score VTR) alors que la seule source d'information provient du programme californien.

De même, les substances « HPV » sont identifiées au travers de la liste de l'OCDE alors qu'un grand nombre de hiérarchisations retenues pour le score « exposition » ont tenu compte du caractère HPV des substances.

Enfin, il existe une possibilité de biais liée à la non comparabilité des jugements des experts entre eux et/ou entre groupes de travail différents, qui ne peut être prise en compte dans cette méthode.

On peut donc émettre de nombreuses réserves, liées notamment :

- à l'addition de diverses listes aux objectifs différents : par exemple, une substance classée CMR et appartenant à la liste OEHHA n'est pas obligatoirement plus prioritaire qu'une substance classée CMR seule (en effet, elle n'est pas forcément plus toxique) ;
- à la prise en compte de listes restrictives (exemple d'une liste de pesticides, PEC), qui conduit forcément à surestimer des familles de substances (dans ce cas, les pesticides) ;
- au biais de sur-classement : lorsque plusieurs listes sont issues d'un seul programme (c'est l'exemple des VTR de l'OEHHA construites dans le cadre de la proposition P65 ; des priorités du RIVM et de la construction de VTR qui s'ensuit ; des priorités de la Commission Européenne concernant les perturbateurs endocriniens et des listes de substances reprotoxiques, etc.) ou quand un critère revient plusieurs fois (exemple du critère « HPV », spécifique de la liste OCDE, mais pris en compte dans de nombreuses autres listes prioritaires) ;
- à l'absence de prise en compte des relations doses - effets : on ne connaît pas la nature des effets critiques, ce qui est préjudiciable pour la construction de VTR reprotoxiques ;
- à l'absence de prise en compte des préoccupations françaises. Toutefois, cet aspect, pris en compte initialement, avait été considéré trop subjectif par le groupe de travail, car chaque expert avait une vision différente des substances prioritaires, en fonction de son champ d'activité et de ses compétences.

Le groupe de travail, conscient des limites méthodologiques précisées, insiste sur la nécessité d'initier une démarche à plus long terme, et en dehors de son champ d'actions, qui ne se limiterait pas forcément au domaine des substances chimiques reprotoxiques. Il a finalement été conclu d'utiliser cette méthode, telle qu'elle, pour sélectionner les substances de la phase pilote dans le cadre de l'étude de faisabilité pour la construction de VTR.

3.3. Sélection des substances pour la phase pilote en 2006

Les trente premières substances ont été sélectionnées par le groupe d'experts selon la méthode de hiérarchisation proposée (tableau XVI). L'étude de faisabilité pour le choix et la construction de VTR reprotoxiques qui débutera au cours de l'année 2006 se fera sur 6 substances de cette liste.

Tableau XVI : Liste des trente premières substances hiérarchisées selon la méthode proposée par le groupe de travail.

Numéro CAS	Substances
117-81-7	Phtalate de di(2-ethylhexyl) (DEHP)
85-68-7	Phtalate de benzyle et de butyle (BBP)
84-74-2	Phtalate de dibutyle (DBP)
7440-43-9	Cadmium
7439-92-1	Plomb
108-88-3	Toluène
118-74-1	Hexachlorobenzène (HCB)
110-80-5	Ethylène glycol éthyléther (EGEE)
25154-52-3	Phénol, nonyl-
111-15-9	Ethylène glycol éthyléther, acétate (EGEEA)
330-55-2	Linuron
50471-44-8	Vinclozoline
71-43-2	Benzène
50-29-3	DDT
75-15-0	Disulfure de carbone
58-89-9	lindane
1836-75-5	Nitrofène
80-05-7	Bisphénol A
109-86-4	Ethylène glycol méthyléther
1746-01-6	2,3,7,8-TCDD
68-12-2	N,N-diméthylformamide
17804-35-2	Bénomyl
106-46-7	Dichlorobenzène, 1,4-
1912-24-9	Atrazine
106-99-0	Butadiène, 1,3-
121-14-2	Dinitrotoluène, 2,4-
100-42-5	Styrène
630-08-0	Monoxyde de carbone
1344-37-2	Plomb, jaune de sulfochromate de
7758-97-6	Plomb, chromate de

Les substances ont été catégorisées en fonction des informations disponibles sur leurs VTR et du type d'effet (fertilité ou développement) considéré. Ainsi, différentes catégories ont été proposées :

- substances ayant des effets sur la fertilité :
    - absence de VTR reprotoxiques
    - présence de plusieurs VTR reprotoxiques
    - présence de VTR reprotoxiques mais pour une voie d'exposition ou une durée autre que celle retenue.
- substances ayant des effets sur le développement :
    - absence de VTR reprotoxiques
    - présence de plusieurs VTR reprotoxiques

- o présence de VTR reprotoxiques mais pour une voie d'exposition ou une durée autre que celle retenue.

Finalement, pour disposer de substances possédant des informations variées, aussi bien e terme de qualité que de quantité, les substances retenues, toutes comprises dans les 11 premières hiérarchisées, ont été :

- Phtalate de di(2-ethylhexyl) (DEHP)
- Phtalate de benzyle et de butyle (BBP)
- Phtalate de dibutyle (DBP)
- Toluène
- Ethylène glycol éthyléther (EGEE)
- Phénol, nonyl-
- Linuron

3.4. Veille scientifique

Au cours de la démarche, le groupe de travail avait identifié un certain nombre de préoccupations françaises à prendre en compte pour hiérarchiser les substances. Certaines difficultés d'ordre méthodologique ont contraint les experts à ne pas prendre en compte ces préoccupations dans le calcul d'un score, mais plutôt aux côtés de la méthode, dans le cadre d'une veille scientifique.
En effet, les thèmes identifiés n'étaient pas exhaustifs et la présentation ne pouvait amener à une méthode cohérente de calcul d'un score. Ces préoccupations nationales peuvent être plutôt comprises comme le fruit de jugements d'experts bien établis.

Par ailleurs, la veille scientifique regroupe également les propositions issues de spécialistes lors de la détection de problèmes de santé publique en émergence.

Ce chapitre se découpe donc en deux sous chapitres, l'un sur les différents projets nationaux d'envergure mis en place récemment ; l'autre sur la pérennisation du réseau de partenaires dans le domaine de la reprotoxicité et des VTR.

3.4.1. <u>Les préoccupations nationales</u>

3.4.1.1. Les substances chimiques dans l'air intérieur

La question de la qualité de l'air intérieur est une préoccupation majeure de santé publique, car l'ensemble de la population est concerné et parce qu'elle touche plus particulièrement les

personnes sensibles (comme les enfants, les personnes âgées ou atteintes de maladies pulmonaires chroniques).

En France, l'Observatoire de la Qualité de l'Air Intérieur (OQAI), créé en 2001, a pour enjeu de mieux connaître la pollution intérieure principalement grâce à des campagnes de mesures, et d'apporter des solutions adaptées à sa prévention et à son contrôle. L'OQAI a mené en 2001 une campagne pilote sur 90 logements et 9 écoles pour tester son dispositif.

En septembre 2003, la première campagne de mesures française à grande échelle a débuté sur 710 logements pour un ensemble de substances préalablement hiérarchisées en fonction d'un indice cumulant les dangers et l'exposition. Les résultats sont attendus pour la fin de l'année 2006.

3.4.1.2. Les pesticides

La large utilisation des pesticides en France et la mise en place progressive de la réglementation européenne (Directive Européenne n°91/414/CEE) ont engagé le débat sur les risques sanitaires encourus par les pesticides et portent ces substances au cœur des préoccupations sanitaires. En 2000, l'avis du CPP a été sollicité par Mme la Ministre chargée de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement, pour étudier les effets sanitaires liés à la présence des produits phytosanitaires et de leurs métabolites dans les sols ou dans les autres milieux en contact avec l'homme. Le CPP a abouti à la conclusion que le problème sanitaire posé par l'utilisation des pesticides en agriculture, et par d'autres utilisateurs, justifiait une application du principe de précaution. Les travaux du CPP s'inscrivent par ailleurs dans le cadre général des actions commandées par les Pouvoirs Publics et des décisions prises. En 2001, le Comité National de Sécurité Sanitaire s'est réuni afin de déclarer, entre autre, la création d'un Observatoire des Résidus de Pesticides (ORP) qui aurait pour mission de rassembler, en vue de leur valorisation, les informations et résultats des contrôles et mesures de résidus de pesticides dans les différents milieux et les produits consommés par l'homme, d'estimer les niveaux d'exposition des populations et d'identifier les actions de progrès pouvant être mises en place sur les systèmes d'information et notamment la nature et le format des données collectées.

Dès lors, de nombreux travaux ont impliqué le choix de molécules à suivre en priorité pour diverses raisons. On peut en décliner les principaux selon les milieux de l'environnement auxquels ils font référence.

<u>Dans l'air</u>

L'estimation des impacts de l'utilisation des pesticides sur la pollution atmosphérique est pratiquement inconnue par rapport au milieu aquatique. De plus, d'un point de vue réglementaire, aucune norme n'existe concernant les concentrations en pesticides dans l'atmosphère. Alarmé par le problème, l'Institut Français de l'Environnement (IFEN) a décidé de lancer des études de

mesures des pesticides dans l'air, sur des zones géographiques précises. 3 rapports régionaux (région Centre, Poitou-Charentes et Champagne Ardenne) ont été utilisés dans ce travail. Les critères de sélection des pesticides à mesurer pour ces 3 régions correspondent à des critères de toxicité (VTR, toxicité, propriétés physico-chimiques), d'environnement (résidus dans les milieux de vie) et d'exposition (bioaccumulation, tonnage, production, utilisation).

Depuis plusieurs années, des campagnes de mesures des pesticides dans l'air ont été lancées dans certaines régions par les Associations de Surveillance de la qualité de l'Air (AASQA), avec l'appui méthodologique du Laboratoire Central de surveillance de la Qualité de l'Air (LCSQA), pour ce qui concerne le développement et la validation des méthodes de prélèvement et d'analyse, et la définition des stratégies de mesures. Le LCSQA a également proposé une première sélection de composés à surveiller dans l'air ambiant, selon des critères de toxicité, d'environnement (propriétés physico-chimiques) et d'exposition (productions, utilisations).
L'IFEN, dans le cadre de l'observatoire des résidus de pesticides, rassemble l'ensemble des données existantes, en particulier, à partir de 3 rapports régionaux (région Centre, Poitou-Charentes et Champagne-Ardenne).
Par ailleurs, depuis 2002, un groupe de travail multidisciplinaire piloté par l'INERIS s'est attaché à développer une méthode combinant l'analyse multicritère et la modélisation pour classer les pesticides présents dans l'air en fonction de leurs propriétés, de leurs utilisations, de leurs impacts potentiels sur la santé humaine et sur l'environnement dans la région où ils sont utilisés. Cette classification doit permettre d'identifier les substances à suivre en priorité dans l'atmosphère.
Cette étude, réalisée pour le Ministère de l'Agriculture (DERF), a conduit en 2004 à la réalisation d'un outil de hiérarchisation et à l'élaboration d'une base de données contenant environ 70 pesticides.

Dans l'eau

L'IFEN publie également une liste de pesticides les plus rencontrés en France dans les eaux superficielles et souterraines. La sélection s'effectue à partir de différentes listes de pesticides des Agences de l'Eau, de la Lyonnaise des eaux, de la Directive eau (Décision n°2455/2001/CE), des DDASS et des DIREN. Le travail de hiérarchisation des substances repose sur la collaboration entre l'IFEN et ces organismes. Les critères retenus sont en général les volumes de production, le potentiel de bioaccumulation (pour les pesticides interdits de commercialisation entre autres comme le lindane). En 2002, 408 pesticides ont été recherchés dans les eaux de surface et 373 dans les eaux souterraines.

Dans les aliments

La Recommandation de l'autorité de surveillance AELE (Aire Economique de Libre Echange) concerne un programme coordonné de contrôle visant à garantir le respect des teneurs maximales en résidus de pesticides dans les céréales et certains produits d'origine végétale, y compris les fruits et légumes. L'objectif est de parvenir progressivement à un système d'évaluation de l'exposition alimentaire effective aux pesticides. Le choix des pesticides repose sur des contrôles de résidus dans un certain nombre de produits alimentaires (une dizaine par an).

Enfin, dans son action de veille et de sécurité sanitaire concernant les risques nutritionnels et sanitaires sur l'ensemble de la chaîne alimentaire (loi du 1er juillet 1998), l'AFSSA a mené une étude d'évaluation de l'exposition théorique des nourrissons et des enfants en bas âge aux résidus de pesticides apportés par les aliments courants et infantiles. Un inventaire des pesticides pouvant être détectés dans les aliments infantiles a été effectué à partir des 189 pesticides les plus utilisés en France. L'exposition a été évaluée à partir de la mesure des résidus en pesticides dans les aliments par plusieurs méthodes aboutissant à 101 substances susceptibles de conduire à un dépassement théorique du crédit journalier des nourrissons et des enfants en bas âge. Seuls 43 composés ont conduit réellement à un dépassement théorique [AFSSA, 2002].

3.4.1.3. Les déchets

De nombreuses publications rapportent une augmentation de l'incidence des pathologies ayant trait à la reproduction et au développement embryofœtal dans les populations résidant autour des décharges. La controverse scientifique est cependant importante car des études épidémiologiques solides ne mettent pas en évidence de tels risques.

C'est dans ce cadre qu'a été entrepris un projet national d'envergure relatif au stockage des déchets, qui contribuera à établir un état des connaissances sur la réalité, la nature et l'ampleur d'un éventuel impact sanitaire des procédés de stockage des déchets.

La liste des substances jugées prioritaires a été identifiée à partir des travaux internationaux de hiérarchisation relatifs aux centres de stockage ainsi que de critères attachés à la situation française (contexte santé environnement et études du Réseau Santé Déchets). Au total, 46 substances ont été jugées prioritaires.

3.4.1.4. Le milieu professionnel

L'INRS a élaboré une liste de substances prioritaires en milieu du travail. Cette liste a été réalisée à partir de trois sources d'informations :

- Les produits le plus fréquemment prélevés dans l'atmosphère des lieux de travail par les Caisses Régionales d'Assurance Maladie et l'INRS depuis cinq ans (période 1999 à 2004) et enregistrés dans la base Colchic[8] ;
- Les produits ayant fait l'objet de la rédaction d'une fiche de synthèse toxicologique vis-à-vis de la reproduction dans le cadre du projet Demeter[9] de l'INRS ;
- Les produits qui viennent de faire l'objet de la fixation d'une nouvelle Valeur Moyenne d'Exposition (VME) par la communauté européenne (Directive 2000/39/CE du 8 juin 2000).

Divers coefficients ont été introduits en fonction de la source. Un coefficient de 3 est appliqué pour les fiches « toxicologie de la reproduction » ainsi que pour les substances possédant un VME ré-évaluée. Pour les substances présentes dans la base Colchic, un coefficient de 3 a été appliqué lorsque les substances ont fait l'objet de plus de 1000 prélèvements ; un coefficient de 2 lorsque les substances ont fait l'objet de plus de 500 prélèvements, mais moins de 1000 ; et enfin, un coefficient de 1 lorsque les substances ont fait l'objet de moins de 500 prélèvements.

Chaque substance a fait l'objet d'une sommation des coefficients de ces listes pour donner un coefficient total de priorité.

3.4.1.5. Les préoccupations des évaluateurs de risques

L'INERIS établit des fiches de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques en utilisant en priorité des informations publiées et reconnues ainsi que les monographies publiées par des organismes de renommée. Les substances étudiées le sont en fonction des préoccupations exprimées par les évaluateurs de risque, selon une enquête qui tient compte plus spécifiquement des préoccupations internes à l'INERIS.

3.4.2. Le jugement d'experts

Au travers le leur activité, et dans le but d'attirer l'attention sur certaines substances ou catégories de substances qui pourraient à l'avenir être identifiées comme reprotoxiques, au vu des nouvelles connaissances, les experts pourront présenter un document de synthèse justifiant la prise en compte de ces substances.

Actuellement, une attention particulière peut être apportée à des substances qui ne sont pas considérées comme prioritaires au terme de la démarche de hiérarchisation proposée, mais qui, selon les experts, sont à prendre en compte, et qui concernent : le monoxyde de carbone, les parabens et la N-méthylpyrrolidone.

[8] Base de données sur les expositions professionnelles, à partir des analyses réalisées par les laboratoires des CRAM et de la CNAM et ceux de l'INRS. Les données en commun sont disponibles depuis 1987.
[9] Documents pour l'évaluation médicale des produits toxiques vis-à-vis de la reproduction (fiches synthétiques qui regroupent les données disponibles sur la toxicité sur la reproduction pour 60 produits), parution prévue en 2006.

CONCLUSION

Cette étape préalable d’identification et de hiérarchisation de substances reprotoxiques va permettre à court terme de tester la méthodologie de construction de VTR reprotoxiques pour une meilleure prise en compte des contraintes pratiques existantes. Si la méthode proposée comporte un certain nombre de limites qui ne permettent pas à l’heure actuelle de statuer sur le caractère de pertinence en terme de santé publique, elle a toutefois permis d’établir une liste de substances reprotoxiques, des pistes de hiérarchisation intéressantes, ainsi que la base d’une réflexion qui doit se poursuivre sur ce sujet. Le groupe de travail insiste sur la nécessité de poursuivre une démarche similaire au long cours, et d’envisager la possibilité de l’élargir à des substances autres que reprotoxiques.

Parmi les substances nécessitant la construction de VTR reprotoxiques, d’une manière prioritaire, les substances ayant un petit volume de production pourraient, par cette méthode de hiérarchisation pondérée, se trouver placées en bas de liste. Or, le volume de production n’est pas toujours corrélé à une faible exposition de la population et à l’absence d’effet sanitaire possible. La mise à disposition de données guide nécessairement les travaux de hiérarchisation qui sont liés aux options choisies précédemment à divers niveaux décisionnels. Mais les évolutions actuelles traduites dans les plans santé environnement existants en France et en Europe présagent de modifications de ces choix afin de prendre en compte la protection de groupes vulnérables. Le travail sur les VTR reprotoxiques pourrait être de ce fait une occasion d'inclure de nouveaux paramètres dans les critères de hiérarchisation.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **AFSSA. 2002.** Evaluation de l'exposition théorique des nourrissons et des enfants en bas âge aux résidus de pesticides apportés par les aliments courants et infantiles. Janvier 2002. www.afssa.fr

- **ATSDR (Agency for Toxic Substance and Disease Registry) 1999**. CERCLA priority list of hazardous substances that will be the subject of toxicological profiles and support document. Atlanta, ATSDR & US EPA 38 pp.

- **ATSDR 2004.** Site Internet http://www.atsdr.cdc.gov/ Minimal Risk Levels (MRLs) for hazardous substances.

- **BKH Consulting Engineers 2000**. Toward the establishment of a priority list of substances for further evaluation of their role in endocrine disruption; preparation of a candidate list of substances as a basis for priority setting. Delft, The Netherlands, European Commission DG ENV Final Report M0355008/1786Q/10/11/00. 29 pp.

- **Blot, K. (2001).** Détermination des paramètres permettant d'identifier les produits phytosanitaires susceptibles d'avoir les impacts sur la santé publique les plus importants en France. Rennes, ENSP 57 pp.

- **Bonan Henri, Prime Jean-Louis. 2001.** Rapport sur la présence de pesticides dans les eaux de consommation humaine en Guadeloupe. Ministère de l'Emploi et de la Solidarité, Inspection Générale des Affaires Sociales ; Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement, Inspection Générale de l'Environnement. Juillet 2001. 86p.

- **CERHR (Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction) 2004.** Site Internet http://cerhr.niehs.nih.gov/ Chemical evaluation and Organization, Chemicals, Reports & Monographs.

- **Choi SM, Yoo SD, Lee BM.** Toxicological characteristics of endocrine-disrupting chemicals : developmental toxicity, carcinogenicity, and mutagenicity. J Toxicol Environ Helath B Crit Rev. **2004**;7(1):1-24.

- **CE (Commission of the European Communities) 2001a.** Directive 2001/59/CE de la Commission, du 6 août 2001, portant vingt-huitième adaptation au progrès technique de la

directive 67/548/CEE du Conseil concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives relatives à la classification, l'emballage et l'étiquetage des substances dangereuses.

- **CE 2001b.** Communication from the Commission to the Council and the European Parliament on the implementation of the Community strategy for endocrine disrupters - a range of substances suspected of interfering with the hormone systems of humans and wildlife. Brussels, European Commission COM(2001)262 final. 45 pp.

- **CE 2004.** Directive 2004/73/CE du 29 avril 2004, portant vingt-neuvième adaptation au progrès technique de la directive 67/548/CEE relative à la classification, l'emballage et l'étiquetage des substances dangereuses.

- **Donald, J. M., Monserrat, L. E., Hooper, K., Book, S. A. and Chernoff, G. F. (1992).** "Prioritizing candidate reproductive/developmental toxicants for evaluation." Reprod Toxicol **6**(1): 99-108.

- **ECB (European Chemicals Bureau) 2004.** http://ecb.jrc.it/ Lien Classification and Labelling, search Annex I and Working Database.

- **Hansen, B., Van Haelst, A., Van Leeuwen, K. and Van der Zandt, P. (1999).** "Priority setting for existing chemicals : european union risk ranking method." Environmental Toxicology and Chemistry **18**(4): 772-779.

- **INRS (Institut National de la Recherche et de la Sécurité) 2002.** Produits chimiques cancérogènes, mutagènes, toxiques pour la reproduction : classification réglementaire, Cahiers de notes documentaires. Hygiène et sécurité du travail ND 2168-187-02. 59 pp.

- **IPCS INCHEM (International Program of Chemical Safety) 2004.** Joint Expert Committee on Food Additives & Joint Meeting on Pesticides Residues (JECFA & JMPR). Site Internet www.inchem.org

- **Health Canada 2004.** Site Internet http://www.hc-sc.gc.ca Concentrations/ doses journalières admissibles et concentrations/ doses tumorigènes des substances d'intérêt prioritaire calculées en fonction de critères sanitaires.

- **Ministère de la Justice (1999).** Loi Canadienne pour la Protection de l'Environnement, Canada.

- **Mitchell, R., Summer, C., Blonde, S., Bush, D., Hurlburt, G., Snyder, E. and Giesy, J. (2000).** "SCRAM : A scoring and ranking system for persistent, bioaccumulative, and toxic substances for the North American Great Lakes. Resulting chemical scores and ranking." Human and ecological risk assessment **8**(3): 537-557.

- **Mosqueron Luc, Nedellec Vincent. 2002.** Observatoire de la qualité de l'air intérieur. Hiérarchisation sanitaire des paramètres mesurés dans les bâtiments par l'observatoire de la qualité de l'air intérieur. Novembre 2002. Rapport final. 98p.

- **NEPC (National Environment Protection Council) 1999.** National Pollutant Inventory (NPI). Technical Advisory Panel. Finale report to NEPC. Australia. January 1999. 49p + annex.

- **NTP (National Toxicology Program) 2004.** Site Internet http://ntp-server.niehs.nih.gov/ NTP Documents and Publications – Abstracts and Organ Systems Toxicity Studies.

- **OEHHA (Office of Environmental Health Hazard Assessment) 2004a.** List of chemicals known to the state to cause cancer and reproductive toxicity. http://www.oehha.ca.gov/

- **OEHHA 2004b.** Site Internet http://www.oehha.ca.gov/ Public Health Goals and air (chronic & acute RELs).

- **OMS (Organisation Mondiale de la Santé) 2004.** Site Internet http://www.who.int. Critères de qualité d'air (air quality guidelines) et critères de qualité de l'eau potable (water sanitation).

- **PEC (Pesticides Education Center) 2004.** Site Internet www.pesticides.org Summary Table of Animal Toxicology Data on Pesticides from Cal-EPA (September 2002) – Marion Moses Oct. 2002 "Reproductive Outcome and Pesticide Exposure".

- **RIVM (Rijksinstituut voor volksgezondheid en milieu) 2004.** Site Internet http://www.rivm.nl Maximum Permissible Risk Levels.

- **Snyder, E., Snyder, S., Giesy, J., Blonde, S., Hurlburt, G., Summer, C., Mitchell, R. and Bush, D. (2000a).** "SCRAM: A Scoring and Ranking System for Persistent, Bioaccumulative, and Toxic Substances for the North American Great Lakes
Part II. Bioaccumulation Potential and Persistence." Environmental Science and Pollution Research **7**.

- **Snyder, E., Snyder, S., Giesy, J., Blonde, S., Hurlburt, G., Summer, C., Mitchell, R. and Bush, D. (2000b).** "SCRAM: A Scoring and Ranking System for Persistent, Bioaccumulative, and Toxic Substances for the North American Great Lakes
Part III. Acute and Subchronic or Chronic Toxicity." Environmental Science and Pollution Research **7**.

- **Snyder, E., Snyder, S., Giesy, J., Blonde, S., Hurlburt, G., Summer, C., Mitchell, R. and Bush, D. (2000c).** "SCRAM: A Scoring and Ranking System for Persistent, Bioaccumulative, and Toxic Substances for the North American Great Lakes
Part IV. Results from Representative Chemicals, Sensitivity Analysis, and Discriminatory Power." Environmental Science and Pollution Research **7**.

- **Snyder, E., Snyder, S., Giesy, J., Blonde, S., Hurlburt, G., Summer, C., Mitchell, R. and Bush, D. (2000d).** "SCRAM: A Scoring and Ranking System for Persistent, Bioaccumulative, and Toxic Substances for the North American Great Lakes. Part I. Structure of the scoring and ranking system." Environmental Science and Pollution Research **7**.

- **US EPA (US Environmental Protection Agency) 1991.** Guidelines for developmental toxicity risk assessment. Washington DC, US EPA, Risk Assessment Forum EPA/600/FR-91/001. 83 pp.

- **US EPA 1994a.** Chemical hazard evaluation for management strategy. A method for ranking and scoring chemicals by potential human health and environmental impacts. Cincinnati, OHIO, Office of research and development EPA/600/R-94/177. 120 pp.

- **US Environmental Protection Agency (US EPA) 1994b.** Comparative evaluation of chemical ranking and scoring methodologies. University of Tennessee. Center for Clean Products and Clean Technologies. EPA order No. 3N-3545-NAEX. 193 pp.

- **US EPA 1996.** Guidelines for reproductive toxicity risk assessment. Washington DC, US EPA, Risk Assessment Forum EPA/630/R-96/009. 143 pp.

- **US EPA 2004.** Base IRIS (Integrated Risk Information System). Site Internet http://www.epa.gov/iris/. IRIS substances list.

- **Vaillant, M., Jouany, J. and Devillers, J. (1995).** "A multicriteria estimation of the environmental risk of chemicals with the SIRIS method." Toxicology Modeling **1**(1): 57-72.

- **Vincent R and Bonthoux F. 2000.** Evaluation du risque chimique : hiérarchisation des “risques potentiels”. Hygiène et sécurité du travail. Cahiers de notes documentaires. N°178, 1 er trimestre 2000. INRS. ND2121-178-00. 34p.

- **Winder C and Gonzalez-Calderon D. 1998.** Use of EC criteria for determining health and environmental hazards for classification of chemicals for environmental risk, Regulatory Toxicology and Pharmacology, 27, 1998 : 38-46.

ANNEXES

Annexe 1 : Liste des substances reprotoxiques candidates

Numéro CAS			Nom chimique
50	00	0	Formaldéhyde
50	29	3	Dichloro-diphényl-trichloro-éthane, p-p'- ou DDT
50	32	8	Benzo[a]pyrène
51	75	2	Mechlorethamine
52	68	6	Trichlorfon
54	62	6	Aminopterin
55	38	9	Fenthion
55	98	1	Busulfan
56	23	5	Tétrachlorure de carbone
56	35	9	Tributylétain, oxyde de- ou TBTO
56	38	2	Parathion
56	72	4	Coumaphos
57	74	9	Chlordane (cis- et trans-)
58	89	9	Hexachlorocyclohexane gamma- ou lindane
60	51	5	Diméthoate
60	57	1	Dieldrine
61	82	5	Amitrole
62	38	4	Phénylmercure, acétate de
62	56	6	Thiourée
62	74	8	Acide fluoroacétique, sel de sodium
63	25	2	Carbaryl
66	81	9	Cycloheximide
67	56	1	Méthanol
67	63	0	Isopropanol
67	66	3	Chloroforme
68	12	2	N,N-diméthylformamide
71	43	2	Benzène
72	43	5	Méthoxychlor
72	55	9	p,p'-dichlorodiphenyldichloroEthylène ou DDE
74	83	9	Bromure de méthyle
74	87	3	Chlorure de méthyle
74	90	8	Cyanhydrique, acide
75	00	3	Chloroéthane
75	01	4	Chlorure de vinyle
75	12	7	Formamide
75	15	0	Disulfure de carbone
75	21	8	Ethylène, oxyde de
75	26	3	Bromopropane, 2-
75	56	9	Propylène, oxyde de
75	60	5	Acide de diméthylarsine (acide cadodylique)
75	99	0	Dalapon
76	44	8	Heptachlore
76	87	9	Fentine-hydroxyde
78	48	8	Tributyl phosphorotrithioate, S,S,S-
78	59	1	Isophorone
78	93	3	Méthyl éthyl kétone

79	01	6	Trichloroéthylène ou TCE
79	06	1	Acrylamide
79	07	2	Chloroacétamide, 2-
79	10	7	Acrylique, acide
79	16	3	N-méthylacétamide
80	05	7	Bisphénol A
81	81	2	Coumafène
83	79	4	Rotenone
84	66	2	Phtalate de diéthyle ou DEP
84	74	2	Phtalate de dibutyle ou DBP
84	75	3	Phtalate de di-n-hexyle ou DHP
85	68	7	Phtalate de benzyle et de butyle ou BBP
86	87	3	Acide naphtalèneacetique
87	86	5	Pentachlorophénol
88	72	2	Nitrotoluène, 2-
88	85	7	Dinosèbe
90	43	7	Phénylphénol, ortho-
93	76	5	Acide trichlorophénoxyacétique (2,4,5-T)
94	75	7	Dichlorophénoxyacétique, acide 2,4- ou 2,4-D
94	81	5	Acide 4-(2-Methyl-4-chlorophenoxy) butyrique
94	82	6	Acide 4-(2,4-dichlorophenoxy)butyrique
95	57	8	Chlorophénol, 2-
95	76	1	Dichloroaniline, 3,4-
96	12	8	Dibromo-3-chloropropane, 1,2- (DBCP)
96	13	9	Dibromopropan-1-ol, 2,3-
96	18	4	Trichloropropane, 1,2,3-
96	45	7	Ethylènethiourée
97	23	4	Dichlorophen
98	95	3	Nitrobenzène
99	30	9	Dichloran (DCNA)
99	65	0	m-Dinitrobenzène
100	25	4	p-Dinitrobenzene
100	41	4	Ethylbenzène
100	42	5	Styrène
101	80	4	Oxydianiline, 4,4'- et ses sels
102	06	7	Diphénylguanidine, 1,3-
103	23	1	Adipate de di(2-ethylhexyl) ou DEHA
104	60	9	Phényl mercure, oléate de
105	60	2	Caprolactam
106	46	7	Dichlorobenzène, 1,4-
106	89	8	Epichlorohydrine
106	92	3	1-allyloxy-2,3-époxypropane
106	93	4	Ethylène, dibromure de
106	94	5	Bromopropane, 1-
106	99	0	Butadiène, 1,3-
107	02	8	Acroléine
107	13	1	Acrylonitrile
107	21	1	Ethylène glycol

108	10	1	Méthyl isobutyl kétone
108	80	5	Cyanurique, acide
108	88	3	Toluène
108	90	7	Chlorobenzène
108	91	8	Cyclohexylamine
108	95	2	Phénol
109	86	4	Ethylène glycol méthyléther ou EGME
110	49	6	Ethylène glycol méthyléther, acétate ou EGMEA
110	54	3	n-hexane
110	71	4	Ethylène glycol diméthyléther ou EGDME
110	80	5	Ethylène glycol éthyléther ou EGEE
110	88	3	Trioxanne, 1,3,5-
111	15	9	Ethylène glycol éthyléther, acétate ou EGEEA
111	77	3	Diéthlyène glycol méthyléther ou DEGME
111	96	6	Diéthylène glycol diméthyléther ou DEGDME
112	49	2	Triéthylène glycol diméthyléther ou TEGDME
112	56	1	2-(2-Butoxy ethoxy)ethylthiocyanate (Lethane)
115	29	7	Endosulfan
115	32	2	Dicofol
115	90	2	Fensulfothion (Danasit)
117	81	7	Phtalate de di(2-ethylhexyl) ou DEHP
117	82	8	Phtalate de bis(2-méthoxyéthyle)
118	74	1	Hexachlorobenzène ou HCB
119	36	8	Salicylate de méthyle
120	32	1	Ortho-benzyl-para-chlorophenol
121	14	2	Dinitrotoluène, 2,4-
121	75	5	Malathion
121	82	4	Cyclotriméthylènetrinitramine
123	39	7	Méthylformamide, N-
124	58	3	Acide méthanearsonique
124	65	2	Diméthylarsinate de sodium
126	11	4	Tris-hydroxyméthyl nitrométhane
127	18	4	Tétrachloroéthylène
127	19	5	Diméthylacétamide, N,N-
128	03	0	Potassium dimethyldithiocarbamate
128	04	1	Sodium, diméthyldithiocarbamate de
131	18	0	Phtalate de di-n-pentyle
133	07	3	Folpet
133	90	4	Chloramben (Amilben)
134	62	3	Benzamide, N,N-diéthyl-3-méthyl-
137	26	8	Thiram
137	30	4	Ziram
137	42	8	Sodium, N-méthyldithiocarbamate de
138	93	2	Disodium cyanodithioimidocarbonate
141	66	2	Bidrin
142	59	6	Nabam
143	33	9	Cyanide, sodium
143	50	0	Chlordécone

148	79	8	Thiabendazole
149	57	5	Acide 2-éthylhéxanoïque
288	88	0	Triazole, 1,2,4-
298	00	0	Parathion, méthyl-
298	04	4	Disulfoton
300	76	5	Naled
301	04	2	Plomb, di(acétate) de
301	12	2	Oxydéméton-méthyl
302	01	2	Hydrazine
309	00	2	Aldrine
319	85	7	Hexachlorocyclohexane, béta-
330	55	2	Linuron
333	41	5	Diazinon
373	02	4	Nickel, acétate de
485	31	4	Binapacryl
505	60	2	Gaz Moutarde
528	29	0	Dinitrobenzène, ortho
533	74	4	Dazomet
554	13	2	Lithium carbonate
556	52	5	Epoxypropan-1-ol, 2,3-
556	67	2	Octaméthylcyclotétrasiloxane
556	88	7	Nitroguanidine
569	64	2	C.I. Basic green 4
573	58	0	C.I. Direct Red 28
584	79	2	Esbiothrin
591	78	6	Hexan-2-one
592	62	1	Acétate de méthyl-ONN-azoxyméthyle
593	88	4	Triméthylarsine
602	01	7	Dinitrotoluène, 2,3-
605	50	5	Phtalate de diisopentyle
606	20	2	Dinitrotoluène, 2,6-
610	39	9	Dinitrotoluène, 3,4-
618	85	9	Dinitrotoluène, 3,5-
619	15	8	Dinitrotoluène, 2,5-
624	83	9	Isocyanate de méthyle
625	45	6	Acide métoxyacétique
630	08	0	Monoxyde de carbone
631	61	1	Dibromoacetic acid
645	05	6	Altretamine
680	31	9	Hexamethylphosphoric triamide
688	73	3	Tributylétain, hydride
732	11	6	Phosmet (Imidan)
759	94	4	Dipropylcarbamothioic acid S-ethyl ester (EPTC)
789	02	6	DDT o,p'-
811	97	2	Tétrafluoroéthane, 1,1,1,2-
872	50	4	Métylpyrrolidone, 1-
900	95	8	Fentin acétate
944	22	9	Fonophos

1071	83	6	Glyphosate
1134	23	2	Cycloate
1303	28	2	Arsenic, pentoxyde d'
1306	19	0	Cadmium, oxyde de (en poudre stabilisée)
1306	23	6	Cadmium, sulfure de
1314	62	1	Pentaoxyde de divanadium
1327	53	3	Arsenic, trioxide d'
1330	20	7	Xylènes totaux
1333	82	0	Chrome, trioxyde de
1335	32	6	Plomb, acétate de (basique)
1336	36	3	polychlorobiphényles ou PCB
1344	37	2	Plomb, jaune de sulfochromate de
1420	07	1	Dinoterbe
1461	22	9	Tributylétain, chlorure de
1563	66	2	Carbofuran
1582	09	8	Trifluraline
1589	47	5	Propylène glycol monométhyléther ou PGME
1689	83	4	Ioxynil
1689	84	5	Bromoxynil
1689	99	2	Bromoxynil, ester octanoïque
1746	01	6	2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-p-dioxine ou TCDD
1836	75	5	Nitrofène
1912	24	9	Atrazine
1918	00	9	Dicamba
1929	77	7	Vernolate
1929	82	4	Nitrapyrin
1937	37	7	C.I. Direct Black 38
2122	19	2	Propylènethiourée
2155	70	6	Tributyltin methacrylate (MTBE)
2163	80	6	Méthanearsonate de sodium
2212	67	1	Molinate
2310	17	0	Phosalone
2312	35	8	Propargite
2385	85	5	Mirex
2437	79	8	PCB 47
2439	01	2	Chinomethionat
2464	37	1	Chlorflurenol
2593	15	9	Terrazole
2602	46	2	C.I. Direct Blue 6
2624	17	1	Monosodium isocyanurate
2675	77	6	Chloroneb
2764	72	9	Diquat
2893	78	9	Sodium dichloro-S-triazinetrione
3337	71	1	Asulam
3691	35	8	Chlorophacinone
3861	47	0	Ioxynil octanoate
4342	36	3	Tributyltin benzoate
5216	25	1	alpha,alpha,alpha,4-tétrachlorotoluène

5234	68	4	Carboxin
5406	86	0	2-(4-tert-butylphényl)éthanol
5543	57	7	(S)-4-hydroxy-3-(3-oxo-1-phénylbutyl)-2-benzopyrone
5543	58	8	(R)-4-hydroxy-3-(3-oxo-1-phénylbutyl)-2-benzopyrone
5902	51	2	Terbacil
6807	17	6	4,4'-isobutyléthylidènediphénol
6923	22	4	Monocrotophos (Azodrin)
7166	19	0	Beta-bromo-beta-nitrostyrene
7439	92	1	Plomb
7439	97	6	Mercure
7440	02	0	Nickel
7440	38	2	Arsenic inorganique
7440	42	8	Boron (Boron et Borates uniquement)
7440	43	9	Cadmium
7440	46	2	Cesium
7440	48	4	Cobalt
7446	27	7	Plomb, bis(orthophosphate) de tri-
7487	94	7	Mercure, chlorure de
7553	56	2	Iodide
7647	15	6	Sodium, bromure de
7696	12	0	Tetramethrin
7718	54	9	Nickel, chlorure de
7723	14	0	Phosphore blanc
7738	94	5	Acide chromique
7758	19	2	Chlorite (sel de sodium)
7758	97	6	Plomb, chromate de
7775	11	3	Chromate de sodium
7778	39	4	Acide arsenique
7778	43	0	Arsenate de sodium
7778	50	9	Dichromate de potassium
7779	27	3	Vancide TH (hexahydrotriethyl-S-triazine)
7783	35	9	Sulfate mercurique
7784	40	9	Plomb, hydrogénoarsénate de
7784	42	1	Arsine
7784	46	5	Arsenite de sodium
7786	81	4	Nickel, sulfate de
7789	09	5	Dichromate d'ammonium
7789	12	0	Dichromate de sodium, dihydrate
7790	79	6	Cadmium, fluorure de
8001	35	2	Toxaphène
8018	01	7	Mancozeb
8021	39	4	Creosote
9006	42	2	Metiram
10043	35	3	Borique, acide
10045	94	0	Nitrate mercurique
10049	04	4	Chlorine dioxide
10108	64	2	Cadmium, chlorure de
10124	36	4	Cadmium, sulfate de

10265	92	6	Methamidophos
10415	75	5	Nitrate mercureux
10453	86	8	Resméthrine
10588	01	9	Dichromate de sodium
10605	21	7	Carbendazine (ISO)
11096	82	5	PCB Aroclor 1260
11097	69	1	PCB Aroclor 1254
12122	67	7	Zineb
12427	38	2	Maneb
12656	85	8	Plomb, rouge de chromate, de molybdate et de sulfate de
12672	29	6	PCB Aroclor 1248
12674	11	2	PCB Aroclor 1016
13121	70	5	Cyhexatin
13138	45	9	Nickel, nitrate de
13194	48	4	Ethoprop
13356	08	6	Fenbutatin oxide
13424	46	9	Plomb, diazoture de
13463	39	3	Nickel, carbonyle
13840	33	0	Lithium hypochlorite
15245	44	0	Plomb, 2,4,6-trinitrorésorcinate de
15299	99	7	Napropamide
15545	48	9	Chlorotoluron
15829	53	5	Oxyde mercureux
17570	76	2	Plomb, méthanesulfonate de
17630	75	0	5-chloro-1,3-dihydro-2H-indol-2-one
17804	35	2	Bénomyl
18015	76	4	Oxalate de vert malachite
19666	30	9	Oxadiazon
20108	78	5	Valinamide
20354	26	1	Methazole
21087	64	9	Metribuzin
21725	46	2	Cyanazine
21908	53	2	Oxyde mercurique, jaune d'
22781	23	3	Bendiocarb
22967	92	6	Méthylmercure
23085	60	1	2,4-dibromobutanoate de benzyle
23564	05	8	Thiophanate-methyl
24579	73	5	Propamocarb
24602	86	6	Tridémorphe
25057	89	0	Bentazon
25154	52	3	Phénol, nonyl-
25311	71	1	Isofenphos
25321	14	6	Dinitrotoluène (mélange technique)
25383	07	7	Monohydrate de (-)-(1R,2S)-(1,2-époxypropyl)phosphonate de (R)-a-phényléthylammonium
25808	74	6	Plomb, hexafluorosilicate de
26002	80	2	Phenothrin
26225	79	6	Ethofumesate
26644	46	2	Triforine

26761	40	0	Phtalate de diisodécyle ou DIDP
28434	00	6	Bioallethrin
28553	12	0	Phtalate de diisononyle ou DINP
29232	93	7	Pirimiphos-méthyl
31218	83	4	Propetamphos
32534	81	9	Ethers Polybromés de Diphényle
32536	52	0	Oxyde de diphényle, dérivé octabromé
32598	13	3	PCB 77
32774	16	6	PCB 169
33089	61	1	Amitraz
34014	18	1	Tebuthiuron
35065	27	1	PCB 153
35554	44	0	Imazilil
37894	46	5	6-(2-chloroéthyl)-6-(2-méthoxyéthoxy)-2,5,7,10-tétraoxa-6-silaundécane
39148	24	8	Fosetyl-al
39300	45	3	Dinocap
39807	15	3	Oxadiargyl
42509	80	8	Isazophos
42874	03	3	Oxyfluorfen
43121	43	3	Triadimefon
50471	44	8	Vinclozoline
51218	45	2	Metolachlor
51338	27	3	Dichlofop-methyl
51596	10	2	Milbemectin
52315	07	8	Cypermethrin
52645	53	1	Perméthrine
53404	19	6	Bromacil lithium salt
53469	21	9	PCB Aroclor 1242
55335	06	3	Trichlopyr (Garlon)
56634	95	8	Heptanoate de bromoxynile
57044	25	4	(R)-2,3-époxypropan-1-ol
57117	31	4	2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofurane
57960	19	7	Acequinocyl (Kanemite)
58138	08	2	Tridiphane
59669	26	0	Thiodicarb
59682	52	9	Fosamine
59756	60	4	Fluridone
60168	88	9	Fénarimol
60207	90	1	Propiconazole
61571	06	0	Tétrahydrothiopyrane-3-carboxaldéhyde
64436	13	1	Arsenobetaine
64902	72	3	Chlorsulfuron
65195	55	3	Avermectin B1
66215	27	8	Cyromazine
66332	96	5	Flutolanil
66441	23	4	Fenoxaprop-ethyl
66841	25	6	Tralomethrin
67485	29	4	Hydramethylnon (Amdro)

67564	91	4	Fenpropimorph
67774	32	7	PBB (biphényls polybromés)
68049	83	2	Azafenidin
68085	85	8	Cyhalothrin/Karate
68359	37	5	Cyfluthrin
68515	42	4	Diesters alkyliques en C7-11 ramifiés et linéaires de l'acide 1,2-benzènedicarboxylique
69327	76	0	Buprofezin
69409	94	5	Fluvalinate
69806	40	2	Haloxyfop-methyl
69806	50	4	Fluazifop-butyl
70124	77	5	Flucythrimate
70657	70	4	Propylène glycol monométhyléther, acétate ou PGME
73989	17	0	Avermectin
74051	80	2	Sethoxydim
76578	14	8	Quizalofop-ethyl
79241	46	6	Fluazifop-P-butyl
79815	20	6	Acide (S)-2,3-dihydro-1H-indole-2-carboxylique
80387	97	9	3,5-bis(1,1-diméthyléthyl)-4-hydroxyphénylméthylthioacétate de 2-éthylhexyle
81777	89	1	Clomazone
84777	06	0	Ester dipentylique (ramifié et linéaire) de l'acide 1,2-benzène-dicarboxylique
84852	15	3	Nonylphénol (4-nonylphénol, ramifié)
85509	19	9	Flusilazole
87820	88	0	Tralkoxydim
88671	89	0	Myclobutanil (systhane?)
90657	55	9	Monochlorhydrate de trans-4-cyclohexyl-L-proline
93107	30	3	Acide 1-cyclopropyl-6,7-difluoro-1,4-dihydro-4-oxoquinoline-3-carboxylique
94361	06	5	Cyproconazole
96314	26	0	Trans-4-phényl-L-proline
96474	20	3	Butylacetylaminopropionic acid (Skin-So-Soft)
99610	72	7	2-(2-hydroxy-3,5-dinitroanilino)éthanol
103361	09	7	Fluomioxazine
106325	08	0	(2RS, 3RS)-3-(2-chlorophényl)-2-(4-fluorohényl)-[(1H-1,2,4-triazol-1-yl)méthyl]oxiranne / Epoxiconazole
107534	96	3	1-(4-chlorophényl)-4,4-diméthyl-3-(1,2,4-triazol-1-ylméthyl)pentan-3-ol / Tébuconazole
115662	06	1	5,6,12,13-trétrachloroanthra(2,1,9-def:6,5,10-d'e'f')diisoquinoléine-1,3,8,10(2H,9H)-tétrone
119738	06	6	R-2-[4-(6-chloroquinoxalin-2-yloxy)-phényloxy]propanoate de tétrahydrofurfuryle
122453	73	0	Chlorfenapyr
125051	32	3	Bis(h^5-cyclopentadiényl)bis(2,6-difluoro-3-[pyrrol-1-yl]phényl)titanium
135158	54	2	Acibenzolar-S-methyl
137512	74	4	Emamectin benzoate
138164	12	2	5-(3-butyryl-2,4,6-triméthylphényl)-2-[1-(éthoxymino)propyl]-3-hydroxycyclohex-2-èn-1-one
138261	41	3	Imidacloprid
141112	29	0	Isoxaflutole
143322	57	0	(R)-5-bromo-3-(1-méthyl-2-pyrrolidinyl méthyl)-1H-indole
143860	04	2	3-éthyl-2-méthyl-2-(3-méthylbutyl)-1,3-oxazolidine
149591	38	8	N,N'-dihexadécyl-N,N'-bis(2hydroxyéthyl)propanediamide
163879	69	4	Mélange d'acide 5-[(4-[(7-amino-1-hydroxy-3-sulfo-2-naphtyl)azo]2,5-diéthoxyphényl)azo]-2-[(3-phosphonophényl)azo]benzoïque et d'acide 5-[(4-[(7-amino-1-hydroxy-3-sulfo-2-naphtyl)azo]2,5-diéthoxyphényl)azo]-3-[(3-phosphonophényl)azo]benzoïque

			Plomb, dérivés alkylés
			Phtalate de n-pentyle et d'isopentyle
			2-[2-hydroxy-3-(2-chlorophényl)carbamoyl-1-naphtylazo]-7-[2-hydroxy-3-(3-méthylphényl)carbamoyl-1-naphtylazo]fluorén-9-one
			Mélange 4-[[bi-fluorophényl)méthylsilyl]méthyl]-4H-1,2,4-triazole + 1-[[bis-(4-fluorophényl)méthylsilyl]-méthyl]-1H-1,2,4-triazole
			Mélange de 1,3,5-tris(3-amino-méthylphényl)-1,3,5-(1H,3H,5H)-triazine-2,4,6-trione et mélange d'oligomères de 3,5-bis(3-aminométhylphényl)-1-poly[3,5-bis(3-aminométhylphényl)-2,4,6-trioxo-1,3,5-(1H,3H,5H)-triazin-1-yl]-1,3,5-(1H,3H,5H)-triazine-2,4,6-trio
			Mélange de 4-(3-éthoxycarbonyl-4-(5-(3-éthoxycarbonyl-5-hydroxy-1-(4-sulfonatophényl)pyrazol-4-yl)penta-2,4-diénylidène)4,5-dihydro-5-oxopyrazol-1-yl)benzènesulfonate de disodium et de 4-(3-éthoxycarbonyl-4-(5-(3-éthoxycarbonyl-5-oxydo-1-(4-sulfonatophény
			Sels et esters de dinosèbe
			Sels et esters de dinoterbe
			Formiate de 2-{4-(ammoniopropylamino)-6-[4-hydroxy-3-(5-méthyl-2-méthoxy-4-sulfamoylphénylazo)-2-sulfonatonapht-7-ylamino]-1,3,5-triazin-2-ylamino}-2-aminopropyle
			N-[2-(3-acétyl-5-nitrothiophén-2-ylazo)-5-diéthylaminophényl]acétamide
			O,O'-(éthénylméthylsilylène)di[(4-méthylpentan-2-one)oxime]
			Paraffines chlorées à chaînes moyennes
			Azafenidin
			Dimethyldithiocarbamate, potassium sel
			Iodine (composés)
			Pyréthrines
			Thiabendazole hypophosphite sel

Annexe 2 : Liste des 50 premières substances hiérarchisées

Numéro CAS			Nom chimique	Class CMR	Score CMR	Liste P65 OEHHA	Liste ED Europe	Liste PEC	Liste ED CDC	Liste CERHR	VTR reprotoxique	SCORE DANGER	RA ECB	Directive cadre eau	Liste ED Europe	OCDE liste "HPV"	NPL ATSDR 2003	LSIP Canada	Australie	RIVM	SCORE EXPOSITION	SCORE TOTAL PONDERE PAR LE POIDS RELATIF
117	81	7	Phtalate de di(2-ethylhexyl) ou DEHP	2	6	1	1			1	5	**12**	1	1	1	1	1	1	1	1	**12**	**1,750**
85	68	7	Phtalate de benzyle et de butyle ou BBP	2-3	6		1		1	1	1	**12**	1		1	1	1	1	1	1	**10**	**1,583**
84	74	2	Phtalate de dibutyle ou DBP	2-3	6		1			1	3	**10**	1		1	1	1	1	1	1	**10**	**1,458**
7440	43	9	Cadmium	3	3	1			1			**7**	1	1		1	1	1		1	**9**	**1,188**
7439	92	1	Plomb	1-3	6	1			1			**10**		1		1	1			1	**6**	**1,125**
118	74	1	Hexachlorobenzène ou HCB			1	1		1		3	**6**		1	1	1	1	1		1	**9**	**1,125**
108	88	3	Toluène	3	3	1					1	**7**	1			1	1	1	1	1	**8**	**1,104**
25154	52	3	Phénol, nonyl-	3	3		1		1			**5**	1	1	1	1		1			**9**	**1,063**
110	80	5	Ethylène glycol éthyléther ou EGEE	2	6	1					3	**10**	1			1		1			**5**	**1,042**
17804	35	2	Bénomyl	2	6	1		1	1		1	**14**				1					**2**	**1,042**
71	43	2	Benzène			1					2	**4**	1	1		1	1	1		1	**9**	**1,000**
100	42	5	Styrène				1		1			**2**	1		1	1	1	1	1	1	**10**	**0,958**
111	15	9	Ethylène glycol éthyléther, acétate ou EGEEA	2	6	1					2	**10**	1			1					**4**	**0,958**
330	55	2	Linuron	2-3	6	1	1	1				**10**			1	1					**4**	**0,958**
50471	44	8	Vinclozoline	2	6	1	1	1				**10**			1	1					**4**	**0,958**
58	89	9	Hexachlorocyclohexane gamma- ou lindane				1	1	1			**4**		1	1	1	1			1	**8**	**0,917**
67	66	3	Chloroforme								2	**2**	1	1		1	1	1		1	**9**	**0,875**
7440	02	0	Nickel								1	**2**	1	1		1	1	1		1	**9**	**0,875**
50	29	3	Dichloro-diphényl-trichloro-éthane, p-p'- ou DDT			1	1		1		1	**6**			1	1	1			1	**6**	**0,875**
109	86	4	Ethylène glycol méthyléther ou EGME	2	6	1					3	**10**				1		1			**3**	**0,875**
75	15	0	Disulfure de carbone	3	3	1					4	**7**				1	1	1	1		**5**	**0,854**
106	46	7	Dichlorobenzène, 1,4-					1			1	**4**	1			1	1	1		1	**7**	**0,833**
1912	24	9	Atrazine				1		1		1	**4**		1	1	1				1	**7**	**0,833**
106	99	0	Butadiène, 1,3-			1					2	**4**	1			1	1	1	1		**7**	**0,833**
96	12	8	Dibromo-3-chloropropane, 1,2- (DBCP)	1	6	1			1		4	**12**					1				**1**	**0,833**
1836	75	5	Nitrofène	2	6		1		1			**8**			1	1					**4**	**0,833**
80	05	7	Bisphénol A	3	3		1		1			**5**	1		1	1					**6**	**0,813**

1746	01	6	2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-p-dioxine ou TCDD			1	1		1		5	**6**			1		1	1		1	**5**	**0,792**
68	12	2	N,N-diméthylformamide	2	6							**6**				1	1	1	1		**5**	**0,792**
110	49	6	Ethylène glycol méthyléther, acétate ou EGMEA	2	6	1					1	**10**	1								**2**	**0,792**
88	85	7	Dinosèbe	2-3	6	1					2	**10**				1					**2**	**0,792**
630	08	0	Monoxyde de carbone	1	6	1						**8**				1	1				**3**	**0,750**
1344	37	2	Plomb, jaune de sulfochromate de	1-3	6	1						**8**				1			1		**3**	**0,750**
7758	97	6	Plomb, chromate de	1-3	6	1						**8**				1			1		**3**	**0,750**
121	14	2	Dinitrotoluène, 2,4-	3	3	1						**5**	1			1	1				**5**	**0,729**
79	01	6	Trichloroéthylène ou TCE								1	**2**	1			1	1	1		1	**7**	**0,708**
108	95	2	Phénol								1	**2**	1			1	1	1		1	**7**	**0,708**
127	18	4	Tétrachloroéthylène								1	**2**	1			1	1	1		1	**7**	**0,708**
50	32	8	Benzo[a]pyrène	2	6							**6**		1			1	1			**4**	**0,708**
7439	97	6	Mercure			1			1		1	**6**		1			1			1	**4**	**0,708**
87	86	5	Pentachlorophénol					1	1		1	**6**		1			1			1	**4**	**0,708**
7775	11	3	Chromate de sodium	2	6							**6**	1			1					**4**	**0,708**
7778	50	9	Dichromate de potassium	2	6							**6**	1			1					**4**	**0,708**
7789	09	5	Dichromate d'ammonium	2	6							**6**	1			1					**4**	**0,708**
32536	52	0	Oxyde de diphényle, dérivé octabromé	2-3	6							**6**	1			1					**4**	**0,708**
1333	82	0	Chrome, trioxyde de	3	3							**3**	1			1	1			1	**6**	**0,688**
115	29	7	Endosulfan						1		1	**4**		1		1	1				**5**	**0,667**
12427	38	2	Maneb				1	1	1			**4**			1	1				1	**5**	**0,667**
106	94	5	Bromopropane, 1-	2-3	6					1		**8**				1					**2**	**0,667**
12656	85	8	Plomb, rouge de chromate, de molybdate et de sulfate de	1-3	6	1						**8**				1					**2**	**0,667**



afsset

agence française de sécurité sanitaire de l’environnement et du travail
253, avenue du Général Leclerc
94701 Maisons-Alfort Cedex
Tél. +33 1 56 29 19 30
afsset@afsset.fr

www.afsset.fr

ISBN 978-2-11-096711-4